FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1931 — N° 14

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Jean ALBERT-WEIL
Chef de Clinique médicale adjoint à la Faculté
Ancien Interne des Hôpitaux
Né le 12 Août 1899 à Paris

LES POISONS DU BACILLE TUBERCULEUX ET LES RÉACTIONS CELLULAIRES ET HUMORALES DANS LA TUBERCULOSE

Esquisse d'une Conception nouvelle des processus pathogéniques de la Tuberculose

Président : A. BORREL, *Professeur*

PARIS
LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS
19, RUE HAUTEFEUILLE, 19
—
1931

LES POISONS DU BACILLE TUBERCULEUX ET LES RÉACTIONS CELLULAIRES ET HUMORALES DANS LA TUBERCULOSE

Esquisse d'une Conception nouvelle des processus pathogéniques de la Tuberculose

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1931

THÈSE

N° 14

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Jean ALBERT-WEIL
Chef de Clinique médicale adjoint à la Faculté
Ancien Interne des Hôpitaux
Né le 12 Août 1899 à Paris

LES POISONS DU BACILLE TUBERCULEUX ET LES RÉACTIONS CELLULAIRES ET HUMORALES DANS LA TUBERCULOSE

Esquisse d'une Conception nouvelle des processus pathogéniques de la Tuberculose

Président : A. BORREL, *Professeur*

PARIS
LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS
19, RUE HAUTEFEUILLE, 19

1931

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM.	MERKLEN ✲ ✪ I.
Assesseur		NICLOUX ✲ ✪ I.

Professeurs :

Embryologie	MM.	ANCEL ✲ ✪ I.
Anatomie		FORSTER ✲ ✪ I.
Histologie		BOUIN O. ✲ ✪ I.
Physiologie		SCHAEFFER ✪ I.
Physique biologique		VLÈS ✲ ✪ I.
Chimie biologique		NICLOUX ✲ ✪ I.
Anatomie pathologique		MASSON ✲ ✪ I.
Pharmacologie, Médecine expérimentale		N...
Hygiène, Bactériologie		BORREL C. ✲ ✪ A.
Médecine légale		CHAVIGNY C. ✲ ✪ I.
Clinique médicale		MERKLEN ✲ ✪ I. AMBARD ✲ ✪ I.
Clinique chirurgicale		LERICHE O. ✲ ✪ I. STOLZ ✲ ✪ I.
Clinique ophtalmologique		WEILL ✪ I.
Clinique dermatologique		PAUTRIER O. ✲ ✪ I.
Clinique psychiatrique		PFERSDORFF ✲ ✪ I.
Clinique neurologique		BARRÉ ✲ ✪ I.
Clinique gynécologique et accouchements		REEB ✪ I.
Clinique infantile		ROHMER ✲ ✪ I.
Clinique oto-rhino-laryngologique		CANUYT ✪ A.

Professeurs sans chaire :

MM. ARON (Max) ✪ I.	MM. GÉRY ✪ A
BELLOCQ ✪ I.	SCHWARTZ ✪ I.
FONTÈS ✪ A.	

Chargés de cours et Agrégés :

MM. BLUM (Paul) ✲ ✪ I.	MM. KREISS.
BENOIT.	LARROUSSE ✪ A.
GELMA ✪ A.	REISS.
GUNSETT ✲ ✪ A.	SIMON ✲ ✪ A.
HANNS ✲ ✪ A.	SIMONIN ✲.
HUMBERT ✲ ✪ A.	VAUCHER ✪ A.
KAYSER.	WEISS A.
KELLER ✪ A.	

Chargés d'un cours complémentaire :

MM. RŒDERER.
BŒCKEL A ✲.
MEYER M.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Serment d'Hippocrate.

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Être suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

Le Docteur E. ALBERT-WEIL

Chef du Laboratoire d'Electro-radiologie de l'Hôpital Trousseau
Chevalier de la Légion d'Honneur

Il fut mon premier maître, et je m'efforcerai toujours de suivre les directives et l'exemple qu'il m'a donnés.

A LA MÉMOIRE
DE MADAME E. ALBERT-WEIL

Enlevée trop tôt à mon affection.

A LA MÉMOIRE DE MA GRAND-MÈRE

Qui me temoigna tant de tendresse et de bonté.

A MA MÈRE

Avec l'expression de mon amour filial et de ma reconnaissance.

A MON BEAU-PÈRE

En témoignage de mes sentiments affectueux.

A MA FEMME

A TOUS LES MIENS

A LA MÉMOIRE DE MON MAITRE

LE PROFESSEUR LÉON BLUM

Il me fit le très grand honneur de m'accueillir comme Interne, et de me choisir ensuite parmi ses chefs de clinique.

Il m'a initié à des disciplines et à des doctrines nouvelles.

Il fut pour moi un chef bienveillant et juste.

Son souvenir et la reconnaissance que je lui porte, demeureront en moi impérissables.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur A. BORREL

Il est un des maîtres dont certains des travaux et des conceptions se sont le plus imposés à mon admiration et ont exercé le plus d'influence sur la genèse de mon travail. Qu'il reçoive ici l'assurance de toute ma respectueuse gratitude et de mon attachement.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur P. MERKLEN

Doyen de la Faculté de Médecine de Strasbourg

Ayant éprouvé depuis mon enfance la bonté et la bienveillance dont il a toujours fait preuve à mon égard, je ne trouve pas de mots pour lui exprimer ma reconnaissance et mon affection.

Par les enseignements théoriques et cliniques qu'il me donna, il contribua pour une part très large à ma formation médicale. Je n'oublierai jamais le Maître et aussi, qu'il me permette de le lui dire respectueusement, l'ami qu'il fut pour moi.

A MON MAITRE

Monsieur le Docteur Vaucher

Chargé de cours à la Faculté de Médecine de Strasbourg

Avec l'expression de ma gratitude pour les enseignements qu'il me donna, et la bienveillance qu'il me témoigna.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur L. M. PAUTRIER

Auquel je suis très reconnaissant de l'année d'Internat que je fis dans son service, où je m'initiai à la Dermatologie.

A MES AUTRES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Externat des Hôpitaux de Paris (1920)

Monsieur le Docteur SOULIGOUX (*in memoriam*)
Monsieur le Docteur O. CROUZON
Monsieur le Docteur L. FOURNIER (*in memoriam*)
Monsieur le Docteur PAISSEAU
Monsieur le Professeur GOSSET
Monsieur le Docteur PICOT
Monsieur le Professeur GILBERT (*in memoriam*)

Internat de l'Hôpital de Rothschild (Paris 1923)

Monsieur le Docteur ZADOC-KAHN
Monsieur le Docteur SCHWAB
Monsieur le Docteur GEORGES WEILL.

A Monsieur le Professeur LEREBOULLET

A Monsieur le Docteur RIBADEAU-DUMAS

A Monsieur le Professeur Agrégé LARROUSSE

Les poisons du Bacille tuberculeux

et les réactions cellulaires et humorales dans la tuberculose

INTRODUCTION

Le problème de la tuberculose s'est considérablement étendu durant ces dernières années et il a acquis du fait des conceptions nouvelles une redoutable complexité. L'étude de ce que l'on appelle l'allergie tuberculeuse et des réactions cellulaires et humorales dans la tuberculose, les recherches concernant les poisons du bacille tuberculeux, et leur action histo et physiopathologique, la recherche de la valeur antigène des différents constituants du bacille de Koch ont apporté une foule de faits nouveaux, mais disparates et parfois contradictoires. Il nous a semblé intéressant, puisque grâce à la bienveillance de notre Maître, M. le Professeur Borrel, nous avons pu pendant plus de deux années nous livrer à l'Institut de Bactériologie de la Faculté de Strasbourg (fondation Michelin) à des recherches de laboratoire concernant les poisons du bacille de Koch et les réactions cellulaires et humorales dans la tuberculose de tenter d'établir une synthèse des faits nouveaux observés et d'en discuter la valeur.

Nous serions heureux si ce travail pouvait servir de

guide aux chercheurs désireux d'aborder les questions si intéressantes et si riches de conséquences théoriques et pratiques, mais aussi si ingrates et si arides, du fractionnement des bacilles acido-résistants, et de l'étude biologique de leurs fractions. Notre but serait atteint si nous avions pu apporter quelques clartés sur toute une série de problèmes infiniment complexes.

Qu'il nous soit permis au début de cette étude d'adresser tous nos remerciements à notre ami et collaborateur R. F. Le Guyon, assistant à l'Institut de bactériologie de la Faculté de médecine de Strasbourg, dont les conseils et l'aide nous furent très précieux.

Il nous faut, en outre, exprimer toute notre gratitude à MM. Michelin (de Clermont-Ferrand) qui ont créé à l'Institut de Bactériologie de Strasbourg une fondation importante pour les recherches sur la tuberculose. De telles initiatives sont beaucoup trop rares en France pour ne pas mériter d'être soulignées. C'est en partie grâce à la Fondation Michelin que nous avons pu mener à bien et publier notre travail.

Nous devons remercier aussi M. le baron Henri de Rothschild qui a bien voulu s'intéresser à nos recherches et les subventionner.

Enfin, nous nous en voudrions d'oublier dans nos remerciements Mlle M. Poirier, laborantine à l'Institut de Bactériologie de Strasbourg, qui nous seseconda très utilement, et nous fit toujours preuve de beaucoup de dévouement.

PREMIÈRE PARTIE

COMPOSITION CHIMIQUE DU BACILLE DE KOCH LES SUBSTANCES EXTRAITES DU BACILLE DE KOCH ET LEUR TECHNIQUE D'EXTRACTION

PREMIÈRE PARTIE

COMPOSITION CHIMIQUE DU BACILLE DE KOCH LES SUBSTANCES EXTRAITES DU BACILLE DE KOCH ET LEUR TECHNIQUE D'EXTRACTION

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS
POISONS ENDO ET EXOMICROBIENS — HISTORIQUE, RAPPEL DE QUELQUES NOTIONS CHIMIQUES, LES TECHNIQUES D'EXTRACTION D'AUCLAIR ET PARIS, ET DE SAKAE TAMURA.

L'étude des poisons du bacille tuberculeux présente un intérêt très grand en matière de tuberculose. En effet les particularités d'évolution des diverses tuberculoses, les divers aspects anatomo-pathologiques qu'elles peuvent présenter, les phénomènes réactionnels très spéciaux propres aux organismes tuberculeux ne semblent pas devoir être imputés seulement au bacille considéré comme une entité indissociable et à ses poisons diffu-

sibles. Ils peuvent aussi être attribués à des poisons divers non seulement exomicrobiens, mais encore endomicrobiens, libérés du complexe bacillaire, et il est donc logique de vouloir distinguer et individualiser ces divers poisons, et en étudier ensuite les effets pathologiques. C'est ce qu'ont tenté de faire de très nombreux auteurs.

Malheureusement, les manipulations chimiques auxquelles on a été contraint de soumettre les bacilles ont peut-être modifié plus ou moins profondément les propriétés biologiques de leurs constituants, de telle sorte que les résultats obtenus avec des poisons extraits du bacille ne peuvent être évidemment en tous points comparables à ceux obtenus avec des bacilles vivants et virulents. C'est de cette notion qu'il importe de se souvenir, si l'on ne veut pas tirer des faits observés des conclusions trop absolues et partant erronées.

Quoi qu'il en soit, il n'en est pas moins vrai, que l'étude chimique et biologique des constituants du bacille de Koch s'est montrée et se montrera encore très féconde et permettra vraisemblablement de préciser le mécanisme des réactions cellulaires et humorales dans la tuberculose. La notion des diverses valeurs antigènes des divers constituants du bacille de Koch est, nous le verrons, d'une très grande importance pour la compréhension du problème de la tuberculose tant clinique qu'expérimentale.

***

La plupart des chercheurs qui ont étudié les poisons du bacille de Koch ont travaillé indépendamment les uns des autres, chacun d'eux utilisant des méthodes

particulières d'extraction et créant une terminologie spéciale pour les produits extraits. Aussi a-t-il été extrêmement difficile de comparer entre elles les substances obtenues, chacune d'elles constituant un complexe particulier.

Nous n'avons nullement l'intention d'énumérer les innombrables travaux qui ont été publiés sur les poisons du bacille tuberculeux. Il nous faut, sous peine d'être noyé sous l'abondance de détails sans lien les uns avec les autres et de perdre absolument de vue l'ensemble de la question, faire un choix parmi ces travaux. Nous ne retiendrons que les principaux, d'une part parmi ceux qui sont les plus classiques, et d'autre part parmi ceux qui sont les plus récents. Ayant décrit le plus rapidement possible les différentes techniques et les différents résultats, nous essaierons par la suite de coordonner ces résultats entre eux et de tirer des conclusions générales tant en ce qui concerne les techniques employées qu'en ce qui a trait aux substances obtenues.

Poisons tuberculeux endo et exomicrobiens

A l'aurore de la découverte du bacille de Koch, on crut trouver dans ses poisons solubles la raison de l'empoisonnement tuberculeux. Mais les faits démontrèrent bientôt que si ce qu'on appelait tuberculine pouvait revendiquer une part dans la détermination des phénomènes généraux de la maladie, elle était incapable d'en reproduire les lésions essentielles.

On fut ainsi amené à rechercher la cause de ces altérations dans le corps du microbe lui-même débarrassé

des produits solubles. Une expérience fondamentale de R. Koch (1), suivie des travaux de Prudden et Hodenpyl (2), Straus et Gamaleïa (3), Grancher et Ledoux-Lebard (4) avaient d'ailleurs établi la toxicité propre des bacilles morts, et la possibilité de créer chez un animal réceptif, et indemne de toute infection tuberculeuse antérieure, tel que le cobaye par exemple, des lésions tuberculeuses par injection sous-cutanée de bacilles de Koch tués par la chaleur. Avec cette réserve toutefois, que les lésions provoquées par les bacilles morts chez les animaux indemnes de toute infection tuberculeuse préexistante restaient localisées exclusivement au point où les bacilles avaient été déposés dans l'organisme et ne se généralisaient jamais. Ces lésions de tuberculose localisées étaient dues évidemment aux poisons endocellulaires du bacille tuberculeux.

L'existence de poisons tuberculeux endo-microbiens étant démontrée, il était naturel d'en vouloir faire l'analyse.

Tous les travaux qui ont été faits jusqu'à ce jour sur la composition organique du bacille tuberculeux depuis ceux initiaux de Hammerschlag (5), de Schweinitz et

(1) R. Koch cité par I. Straus, *La tuberculose et son bacille*, Paris, 1895.

(2) Prudden et Hodenpyl, *Studies on the action of dead bacteria in the living body*, New-York Med. Journal 6 et 20 juin 1891.

(3) Straus et Gamaleïa, *Contribution à l'étude du poison tuberleux* (*Arch. med. expérim. et d'anat. Path.*, 1891, p. 705).

(4) Grancher et Ledoux-Lebard, *Tuberculose humaine et aviaire. Action de la chaleur sur la fertilité et la virulence du bacille de* Koch (*Arch. de med. experim. et d'anat. pat.*, janvier 1891, n° 1). Cités par Auclair et Paris, *Arch. med. expér. et d'anat. path.*, tome XX, 1908, p. 738.

(5) Hammerschlag, *Bactériologish-Chemisch untersungen über*

DORSET (6), d'AUCLAIR et PARIS (7), et de beaucoup d'autres (8), jusqu'à ceux des auteurs américains les plus récents, ont établi qu'en ce qui concerne le bacille de KOCH, on pouvait distinguer :

D'une part des *substances diffusibles*, en dehors du microbe, solubles soit dans l'eau, soit dans les solutions chlorurées sodiques faibles. Ces substances, constituant les poisons dits exomicrobiens, sont rangées sous le nom générique de tuberculines. Les tuberculines n'ont été jusqu'ici obtenues qu'en solutions colloïdales dans les milieux de culture, ou mélangées ou combinées avec les éléments même du milieu sur lequel ont poussé les bacilles. Leur composition par conséquent varie avec celle du milieu de culture considéré.

Elles sont vraisemblablement de nature ou plutôt d'*origine* protéique et elles possèdent des propriétés biologiques particulières.

tuberkelbazillen. Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch, 13 décembre 1888.

(6) De SCHWEINITZ et DORSET, *The composition of the tuberculosis and glanders bacilli* (*Journal of the americ. Soc.*, tome XVII, p. 605, 1895).

(7) AUCLAIR et PARIS, a) *Constitution chimique des bacilles de* KOCH (*Arch. de méd. exper. et d'anat. path.*, tome XIX, p. 129-144 1907.)

b) *Constitution chimique et propriétés biologiques du protoplasme du bacille de la tuberculose* (*Arch. de méd., exper. et d'anat. path.*, t. XX, p. 737-752, 1908).

(8) Voir pour la bibliographie complète, d'une part :

CALMETTE, *L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux*, troisième édition, 1928, p. 70 et suivantes et p. 99 et suivantes.

Et d'autre part GORIS, *Composition chimique du bacille tuberculeux* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XXXIV, p. 497 et suivantes, 1920).

Et R. J. ANDERSON, *The separation of lipoid fraction from tubercle bacilli* (*Journal of biol. chem.*, t. LXXIV, p. 534, juillet 1927).

D'autre part des substances endo-microbiennes non diffusibles ou difficilement diffusibles comprenant les poisons endo-microbiens qu'on ne peut nettement séparer des éléments constitutifs du corps bacillaire lui-même (9).

On a reconnu que le bacille de Koch comportait des constituants protéiques et des constituants lipoïdo-graisseux incorporés à toute sa masse et on a pu extraire de ses cultures pures et débarrassées du milieu sur lequel elles avaient poussé des graisses, des acides gras, des cires, des lipoïdes phosphorés ou phosphatides ; on a pu isoler enfin des bacilles entièrement débarrassés des graisses et des lipoïdes des substances protéiques et des acides animés.

C'est dire que les agents d'extraction utilisés par les différents auteurs dans leur technique ont été d'une part des solvants des graisses et des lipoïdes, d'autre part, des solvants et des précipitants des substances protéiques.

On a utilisé comme solvants des graisses et des lipoïdes le chloroforme, l'éther sulfurique, l'éther de pétrole, l'acétone, l'alcool absolu, ou l'alcool à 90° ou

(9) En dehors des poisons bacillaires extractibles et fixes, le bacille tuberculeux en produirait peut être d'autres de nature volatile. Les bactériologistes qui ont eu l'occasion de préparer des tuberculines en évaporant des cultures au bain marie ou en triturant à sec des bacilles tuberculeux tués par le chauffage, les connaîtraient bien pour en avoir éprouvé les effets. Armand-Delille (*Soc. d'études sur la tuberculose*, déc. 1913) a très exactement décrit les accidents qu'il a eu l'occasion d'observer sur lui-même (courbature, frisson, céphalée, fièvre). Tous les bactériologistes ne sont pas sensibles à ces poisons dits volatils des cultures tuberculeuses. Il s'agit vraisemblablement quelquefois, selon nous, de réactions tuberculiniques provoquées par l'absorption de poussières chargées de bacilles morts.

à 70°, le xylol (10), le toluène, le benzène, le benzaldéhyde, etc.

On a saponifié les graisses par des bases, on a précipité les substances protéiques par certains acides, par des alcools à différents degrés, etc.

En ce qui concerne les différents solvants des graisses qui furent employés, il convient de faire les observations suivantes : non seulement le choix de solvants déterminés, mais encore l'ordre dans lequel ces solvants sont employés a une grande importance, *des complexes différents étant obtenus selon les différentes techniques.*

Avant d'entreprendre l'étude des différentes techniques qui ont été employées en vue de l'extraction des différentes fractions du bacille de Koch, il nous semble nécessaire, afin de faciliter la compréhension de ce qui va suivre, d'exposer ici très rapidement quelques notions de chimie organique se rapportant aux composés lipoïdes et cireux. Nous ne définirons qu'ultérieurement, dans le cours de l'ouvrage certains termes se rapportant aux protéines.

Les auteurs parlent sans cesse, nous le verrons, de cires, de matières grasses, de résidus insaponifiables, de phosphatides. Ils désignent souvent toutes ces substances sous le nom générique de lipoïdes. Il importe d'avoir une idée aussi nette que possible de la nature et des propriétés chimiques de ces substances, et comme nous nous adressons surtout à des médecins et à des biologistes, qui n'ont peut être plus tout à fait présente

(10) Borrel (A), *Bacilles tuberculeux et paratuberculeux* (*Bull. Inst. Past.* 1904, N^os^ 10, 11 et 12).

à la mémoire la nomenclature de la chimie organique, il est nécessaire de la leur rappeler.

On sait qu'on a coutume d'appeler corps gras des corps assez nettement définis qui sont constitués par des composés ternaires dus à des combinaisons d'acides gras et de glycérine et décomposables par les alcalis avec formation de glycérine et d'acide organique, appartenant aux séries $C^nH^{2n}O^2$ (tel par exemple l'acide stéarique $C^{18}H^{36}O^2$) et $C^nH^{2n-2}O^2$ (tel par exemple l'acide oléique $C^{18}H^{34}O^2$) c'est-à-dire saponifiables (11). Les corps gras sont donc des mélanges *d'éther de la glycérine*, ou *glycérides*. Mais à côté de ces glycérides, de ces graisses relativement simples, il en est d'autres qui comprennent non plus des éthers de la glycérine mais des mélanges d'éthers d'alcools à poids moléculaire très élevé. Le cholestérol par exemple, qui a plusieurs fonctions alcools a pour formule brute $C^{27}H^{46}O$.

Ses éthers sont au premier chef des lipoïdes. Ces graisses sont même composées le plus souvent non pas seulement de mélanges de ces éthers complexes, mais encore de ces alcools particuliers existants à l'état libre dans le mélange. Ces alcools d'ailleurs sont en réalité des acides-alcools. Ils possèdent le plus souvent non seulement, plusieurs fonctions alcools, mais encore plusieurs fonctions acides.

L'acide glycéro-phosphorique par exemple, a dans sa forme α, asymétrique, une fonction alcool primaire, une fonction alcool secondaire, et deux fonctions acides, et dans sa forme β symétrique, deux fonctions alcools primaires, et deux fonctions acides.

Les éthers complexes, dont nous avons parlé plus haut sont nés le plus souvent, non seulement de l'éthérification des fonctions alcools de l'acide alcool par les acides gras, mais encore de l'éthérification par les fonctions acides de

(11) Exemple de saponification :

$$\underset{\text{stéarine}}{C^3H^5(C^{18}H^{35}O^2)} + 3KOH = \underset{\text{glycérine}}{C^3H^5(OH)^3} + 3\underset{\substack{\text{stéarate de K}\\\text{(savon)}}}{C^{18}H^{35}O^2K}$$

l'acide-alcool de ou des fonctions alcools d'autres composés à fonction alcool, composés qui sont le plus souvent des composés azotés : telle par exemple la choline (12).

L'acide glycéro-phosphorique peut ainsi par exemple s'éthérifier sous l'action des acides stéariques et oléique sur les 2 OH disponibles de ses fonctions alcools de sa chaîne glycérique. D'autre part l'une des deux fonctions acides de son groupe phosphorique éthérifie le groupe OH du radical à fonction alcool de la choline. On a ainsi formation d'une lécithine stéaro-oléique (12) qui est un des lipoïdes les plus simples. Les lipoïdes organiques sont beaucoup plus complexes et on conçoit d'après ce qui précède que *des substances azotées complexes telles que les protéines puissent être combinées dans l'organisme à des complexes lipoïdiques.*

(12) *Acide glycérophosphorique* (forme α, asymétrique) : Formule :

$$\begin{array}{l} CH^2 - OH \quad \text{Fonction alcool primaire} \\ | \\ CH - OH \quad \text{Fonction alcool secondaire} \\ | \\ CH^2 - O - PO - OH \\ \qquad\qquad\quad | \qquad\quad \left.\begin{array}{l}\\ \\ \end{array}\right\} \text{Fonctions acides} \\ \qquad\qquad\quad OH \end{array}$$

Acide stéarique : Formule : $C^{17}H^{35} - COOH$.
Acide oléïque : Formule : $C^{17}H^{33} - COOH$.
Choline : Formule :

$$\begin{array}{l} \quad\quad OH \\ \quad\quad / \\ N \equiv (CH^3)^3 \\ \quad\quad \backslash \\ \quad\quad CH^2 - CH^2 - OH \quad \text{Fonction alcool} \end{array}$$

Lécithine stéaro-oléïque : Formule :

$$\begin{array}{l} CH^2 \cdot O - CO \cdot C^{17}H^{35} \\ | \\ CH \cdot O - CO \cdot C^{17}H^{33} \\ | \\ CH^2 \cdot O - PO \cdot OH \\ \qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\quad O \cdot C^2H^4 \cdot N - (CH^3)^3 \cdot OH \end{array}$$

Lécithine stéaro-oléïque forme α

Quoi qu'il en soit, nous dirons qu'on désigne sous le nom de lipoïdes le mélange de ces divers corps complexes possédant des propriétés particulières assez voisines sur certains points de celles des glycérides : consistance analogue, grande solubilité dans les liquides anesthésiques, etc.

Conservant l'ancienne nomenclature (13) nous ferons entrer dans le groupe, assez disparate d'ailleurs, des lipoïdes :

1° les mélanges d'éthers et d'alcools complexes constituant les dites « cires et matières grasses du bacille de Koch » ;

2° les phosphatides.

Nous sommes contraints en effet d'englober sous un même vocable, *avant tout fractionnement chimique*, les graisses relativement simples et les graisses plus complexes du bacille de Koch.

Les cires sont théoriquement des éthers simples formés d'un acide gras et d'un alcool de la série grasse à poids moléculaire élevé, de telle sorte qu'il est assez illogique de désigner, comme l'a fait, ainsi que nous le verrons, R. J. Anderson, un résidu insaponifiable sous la désignation de cire insaponifiable. Mais la plupart des auteurs donnent au mot cire un sens plus général, et admettent qu'elles peuvent contenir des alcools à l'état libre.

(13) Actuellement on fait rentrer les glycérides et les substances classées sous le terme générique de lipoïdes dans une classe commune : les lipides.

On pourrait donner des lipides la classification suivante en cinq groupes :

1re classe : *lipides ternaires.*

1er groupe : lipides ternaires de la série grasse : graisses, acides gras, savons et cires (?).

2me groupe : lipides ternaires de la série aromatique : cholestérine ; éthers de la cholestérine.

2me classe : *lipides azotés.*

3me groupe : lipides phosphorés : lécithines et phosphatides.

4me groupe : lipides non phosphorés : cérébrosides.

3me classe : *lipides de constitution inconnue.*

(Voir Linossier (G.), *Rôle des lipoïdes dans l'infection et dans l'Immunité.* Rapport présenté au XIVe congrès Français de Médecine, Bruxelles 19-22 mai 1920. Imprimerie Médicale et Scientifique, 34, rue Botanique, Bruxelles).

Les phosphatides sont des lipoïdes *phosphorés et azotés*, plus complexes que les lécithines. Les lécithines sont des acides glycéro-phosphoriques modifiés par l'introduction de 2 restes d'acide gras et combinés avec une base organique complexe, la choline (voir note 12). Alors que les lécithines sont caractérisées par un rapport tel entre le P et le N que pour un atome de P il vient un atome de N, les phosphatides ne présentent pas ce même rapport entre le P et le N. Elles diffèrent des lécithines par la nature des acides gras, par celle du complexe phosphoré, par celle de la base qui prend la place de la choline. Ce sont de telles phosphatides qu'on trouve dans le bacille tuberculeux (14).

Ayant maintenant nettement précisé certains points de nomenclature qu'il était nécessaire de rappeler, nous pouvons aborder l'étude des travaux des principaux chercheurs.

Les techniques d'Auclair et Paris

Auclair dans ses expériences de début (15) avait traité d'une part une quantité de bacilles de Koch vivants et lavés, par l'éther, d'autre part une autre quantité de bacilles par le chloroforme. Il avait appelé éthéro-bacilline les substances lipoïdo-graisseuses se

(14) Thudicum subdivise les lipides phosphorés en les 6 groupes suivants, selon le rapport entre le N et le P : 1° les monoaminophosphatides renfermant un atome de N pour un atome de P ; 2° les monoaminodiphosphatides contenant un at. de N pour deux at. de P ; 3° les diaminophosphatides contenant 2 at. de N pour un at. de P ; 4° les diaminodiphosphatides contenant 2 at. de N pour 2 at. de P ; 5° les triaminophosphatides contenant 3 at. de N pour un at. de P ; 6° les triaminodiphosphatides contenant 3 at. de N pour 2 at. de P.

(15) J. Auclair, *Thèse de Paris*, 1897 et *Revue de la Tuberculose*, Juillet 1898.

dissolvant dans l'éther après premier traitement et chloroformo-bacilline les substances lipoïdo-graisseuses se dissolvant dans le chloroforme après premier traitement.

Nous verrons dans la troisième partie de cet ouvrage les propriétés physiologiques particulières qu'il attribua à chacune de ces deux fractions (qui furent testées, bien entendu, après évaporation complète de l'éther ou du chloroforme).

Ce fut Auclair qui, l'un des premiers, démontra la réalité des poisons adhérents en regard des poisons solubles. Il adopta ultérieurement avec son collaborateur Paris, en vue de l'isolement des protéines bacillaires la technique suivante (16) : « Les cultures sur bouillon « glycériné, bien développées, et âgées de six semaines « environ, sont portées à 100° dans la vapeur d'eau « fluente et filtrées sur papier Chardin. La masse ba- « cillaire est lavée à l'eau distillée, puis délayée dans « l'eau distillée stérilisée où elle macère pendant vingt- « quatre heures à 38°. Cette opération répétée deux fois « débarrasse la masse des « albumoses toxiques ». Le « liquide filtré contient des albumines en quantité très « faible et des albumoses. Les albumines sont facile- « ment précipitées par le sulfate d'ammoniaque à satu- « ration. Les albumoses restent dans le liquide.

« Les bacilles sont ensuite mis à macérer dans les « mêmes conditions et pendant le même temps dans une « solution de chlorure de sodium à dix pour mille. Le

(16) Auclair et Paris, *Constitution chimique et propriétés biologiques du protoplasme du bacille de la tuberculose* (*Arch. de méd., expér. et d'anat. path.*, t. XX, p. 737-752, 1908).

« liquide filtré contient des traces de globuline qu'on « précipite par le sulfate de magnésie à saturation et « qu'on recueille par dialyse ; ces manipulations doivent « être faites aseptiquement.

« Ces trois ordres de substances constituent les poi- « sons solubles du bacille. Lorsqu'ils sont chauffés au « bain-marie pendant plusieurs heures, ces poisons « possèdent les propriétés de la tuberculine : c'est la « T. V. de von Behring.

« Les bacilles sont ensuite lavés avec soin. On les « essore et on les porte dans un appareil à épuisement « où ils sont traités successivement par l'alcool absolu « l'éther et le chloroforme. D'après Auclair et Paris, « l'alcool dissoudrait les corps suivants : matières colo- « rantes, lécithines, acides gras, et des alcaloïdes donnant « avec le chlorure de platine des sels doubles cristalli- « sables, tandis que l'éther dissout les graisses neutres « et des substances analogues à la cholestérine et des « produits peu définis.

« Lorsque les bacilles ont été épuisés et dégraissés, on « les chauffe à 80° avec de l'acide acétique pur et con- « centré pendant une heure, puis on filtre l'acide qui est « devenu visqueux et a pris une teinte jaune. Cette opé- « ration est répétée jusqu'à épuisement complet, ce qui « demande assez longtemps, l'acide acétique arrivant « vite à saturation. Les liqueurs sont réunies et aban- « données au repos. Le liquide limpide à chaud se trouble « par refroidissement et laisse déposer des flocons qui « deviennent plus abondants par addition d'eau. On « sature en partie par une solution étendue de soude « caustique, de telle façon qu'on conserve à la fin de l'opé-

« ra+ion une légère acidité. Cette condition est indispen-
« sable, car la protéine précipitée ayant par elle-même
« une réaction acide, on n'aurait une réaction neutre
« qu'après avoir ajouté suffisamment de réactif pour la
« saturer complètement tout en lui permettant de se
« redissoudre.

« La protéine précipite en épais flocons qu'on laisse
« se rassembler ; on filtre avec précaution le liquide sur-
« nageant, et on lave à l'eau chaude jusqu'à disparition
« complète de la réaction acide de filtration. Après
« lavage sur le filtre, avec de l'alcool à 80°, on recueille
« le précipité dans l'alcool à 95° où il blanchit et se ras-
« semble en grumeaux. Au bout d'une heure, on jette
« sur un filtre et on lave à l'éther ; puis on abandonne à
« la dessication dans le vide sulfurique. »

Ainsi préparée, la protéine, blanche à l'état humide, prend une couleur blanc jaunâtre et une consistance cornée. Auclair et Paris l'ont désignée sous le nom de *bacillo-caséine*, et lui attribuent les propriétés des caséines permettant de la faire rentrer dans la classe, très imprécise d'ailleurs, « des paranucléoprotéides ».

***

On voit qu'en commençant par traiter les bacilles par l'alcool, puis par l'éther, Auclair et Paris, leur ont enlevé un mélange complexe de certaines graisses et de certaines phosphatides ; ils n'ont plus extrait par le chloroforme qu'une partie des lipoïdes qui étaient insolubles dans l'alcool et l'éther. Au contraire Goris, nous le verrons commence par traiter les bacilles par le chlo-

roforme qui, solvant très puissant, dissout ainsi la presque totalité des lipoïdes et des graisses du bacille tuberculeux.

Il est possible d'ailleurs, que la bacillo-caséine obtenue par AUCLAIR et PARIS *contienne encore des éléments lipoïdes* mais en petite quantité et ne soit donc pas une protéine tout à fait pure, l'épuisement par l'alcool, l'éther et le cloroforme, tel que l'ont pratiqué AUCLAIR et PARIS, n'ayant peut être pas suffi pour enlever la totalité des graisses et des lipoïdes.

TECHNIQUE DE SAKAE TAMURA

Après AUCLAIR et PARIS, et beaucoup plus récemment, SAKAE TAMURA (17), dont la technique diffère de celle de ses prédécesseurs français mais s'en rapproche toutefois par certains côtés, a obtenu d'importants résultats en employant la méthode suivante :

« La masse bactérienne (70 grammes) est épuisée par « l'alcool-éther ; la partie insoluble est mélangée avec un « liquide formé de deux parties d'acide sulfurique et « d'une partie d'eau. Les bacilles sont détruits et l'on « obtient une masse sirupeuse brune. Cette masse ver- « sée dans l'eau laisse se déposer un précipité blanc flo- « conneux, contenant la totalité des substances pro- « téïques. Le dépôt est recueilli sur un filtre, lavé à « l'eau jusqu'à disparition de toute réaction acide des « eaux de lavage, puis séché dans le vide. Le produit

(17) SAKAE TAMURA, *Zur Chemie der Bakterien. Zeitsch., f. physiol. chem.*, LXXXVII, p. 85-114, 1913.

« ainsi obtenu cède à l'alcool et à l'éther une assez grande « partie de substance lipoïde ; la partie insoluble repré- « sente 28 grammes du poids primitif et est encore acido « résistante.

« On la chauffe quatorze heures en présence de SO^4H^2 « à 25 %. A la surface de la solution sulfurique appa- « raît une matière huileuse, qui, par refroidissement se « prend en masse. Dissoute dans l'éther cette croûte « donne pour 70 grammes de bactéries un résidu de « 6 grammes. Après évaporation de ce solvant, on fait « cristalliser dans l'alcool bouillant, qui par refroidisse- « ment laisse déposer un abondant précipité blanc fon- « dant à 46°. Le produit est purifié par dissolution à « chaud, dans une petite quantité de benzine. Par refroi- « dissement il se sépare une masse gélatineuse conte- « nant un peu d'acides gras et de carbure d'hydrogène.

« La solution benzénique est évaporée, et le résidu « repris par l'alcool bouillant ; par cristallisations répé- « tées dans l'alcool, il fournit une poudre d'un blanc de « neige *fondant à* 66°. » Sakae Tamura lui a donné le nom de Mykol, parce qu'il a trouvé le même produit dans le Mykobakterium lacticola perrugosum.

Les propriétés de ce mykol sont les suivantes : il est facilement soluble dans le chloroforme, le xylol, le toluène, l'éther de pétrole, l'éther sulfurique, plus difficilement soluble dans l'alcool froid, et dans l'alcool méthylique. *Il possède l'acido-résistance*, et ne renferme ni azote ni phosphore. Sa composition centésimale serait C = 82,46 % ; H = 13,58 % ; sa formule $C^{29}H^{56}O$.

Le mykol ne donne aucune des réactions colorées du cholestérol ; d'après l'auteur il se rapproche du choles-

tol et du lupéol, alcools retirés l'un de l'écorce du quinquina, l'autre du lupin et qui ont comme le mykol *la propriété de donner un dérivé bromé de substitution* (Goris).

Nous retrouverons ce mykol, en utilisant une autre technique qui est celle de Goris et que nous avons adoptée. Le mykol de Sakae Tamura est vraisemblablement un **résidu insaponifiable.**

CHAPITRE II

LES LÏPOIDES DU BACILLES DE KOCH ; TECHNIQUE D'EXTRACTION DE GORIS (18) ET RÉSULTATS OBTENUS

Nous avons refait presque toutes les manipulations de Goris. Nous n'avons pu malheureusement pousser nos recherches aussi loin que nous l'aurions voulu, ayant présenté à plusieurs reprises, tout comme Goris lui-même, de violentes réactions tuberculiniques qui nous ont contraint de suspendre notre expérimentation.

Nous avons travaillé comme Goris sur un mélange de bacilles humains et bovins (souche Vallée) utilisés à l'Institut Pasteur pour la préparation de la tuberculine.

Les éléments microbiens, tués par le chauffage à 110° sont soigneusement lavés jusqu'à ce que l'eau de lavage, ne donne plus de réactions au réactif de Tanret, puis essorés.

On les soumet ensuite à une série d'épuisements, d'abord par le chloroforme, puis par l'alcool et l'éther. Nous jugeons inutile de donner ici le détail de la technique de Goris qu'il a lui-même excellemment décrite

(18) Goris, *Ann. Inst. Past.*, 1920, t. XXXIV, p. 497.

Tableau 1

Substances extraites des bacilles de Koch

ayant poussé sur bouillon glycériné, et ayant été séparés de ce milieu au cours de la préparation de la Tuberculine O. T.

(Extraction par la technique de Goris)

B. K. soigneusement lavés

↓

Épuisement par le chloroforme

↓

A) Solution chloroformique.

↓

Evaporation de cette solution.

↓

Résidu gras couleur chamois.

↓

Epuisement de ce résidu à l'Ether sulfurique.

↓

Solution éthérée contenant les substances solubles dans l'Ether.

↓

Evaporation.

↓

Il reste une masse butyreuse de couleur rouge.

↓

Reprise par Acétone bouillant.

↓

Solution acétonique.

↓

par refroidissement donne

↓

Solution qui par évaporation donne *Matières Grasses* (*Fraction IV*).

Résidu insoluble dans l'Ether.

↓

Redissolution dans le chloroforme.

↓

Après évaporation de cette solution chloroformique : Substance de couleur blanc rosé — Consistance élastique.

↓

Ether de nature spéciale = *Hyalinol* (*Fraction I*).

Résidu insoluble dans l'Acétone bouillant.

↓

Mélange cireux coloré en brun rouge (*Fraction II*).

Dépôt blanc qui repris par Acétone bouillant donne par refroidissement.

↓

Résidu insoluble de couleur blanche

↓

Cire (*Fraction III*).

B) Résidu bactérien insoluble dans le chloroforme.

↓

Epuisement par l'Alcool bouillant.

↓

Liqueur ou par refroidissement il se dépose une

↓

Substance blanche (Fraction V). (Soluble dans $CHCl^3$ que les traitements précédents n'avaient pas complètement enlevée).

Résidu Bactérien (insoluble dans $CHCl^3$. Peu soluble dans l'Alcool).

↓

Epuisement par l'eau.

↓

Solution aqueuse.

↓

La solution aqueuse est additionnée de 4 à 5 fois son poids d'alcool à 95°.

↓

Il se forme un précipité.

↓

On recueille le précipité par centrifugation. On décante la solution hydro-alcoolique.

↓

Le précipité est lavé à l'alcool et à l'éther.

↓

Précipité = *Substances albuminoïdes ayant les propriétés de la Tuberculine brute* (*Fraction VI*).

Cette solution est distillée, puis évaporée au bain marie.

↓

Il reste un résidu important à odeur de peptone — *Contient des produits de transformation des Albuminoïdes. Acides Aminés.* (*Fraction VII*).

et beaucoup mieux que nous ne saurions le faire dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, 1920, vol. XXXIV, p. 497 et suivantes. Nous nous bornerons à renvoyer le lecteur au mémoire original de GORIS. La méthode de GORIS et les résultats qu'il a obtenus peuvent être schématisés dans les tableaux suivants : (Se rapporter d'abord au tableau 1).

TABLEAU 2

Composition organique du bacille de KOCH *(d'après* GORIS)

(Résumé du tableau précédent)

BACILLES DE KOCH (mélange de bacilles humains et bovins, souche VALLÉE tués par la chaleur) donnent :	1° *Groupe de Substances* : solubles dans le chloroforme : fractions I, II, III, IV. A ces fractions, il faut ajouter la fraction V que le traitement par l'alcool à 95° bouillant a permis d'enlever. Ces fractions sont constituées par des GRAISSES et des LIPOÏDES (selon la terminologie de l'ancienne nomenclature). Constituent 38 % *environ du poids des bacilles bruts secs.*	
	2° *groupe de substances* : solubles dans l'eau, insolubles dans le chloroforme et l'alcool. Précipitées par addition d'alcool à 95° à la solution aqueuse à raison de 4 à 5 fois son poids. Représente 1,20 % du poids des bacilles bruts secs.	Fraction VI *Albuminoïdes = Tuberculine brute.*
	3° *groupe de substances* : solubles dans l'eau, insolubles dans le chloroforme, peu solubles dans l'alcool. *Non précipitées* par addition d'alcool à 95°. Représente 4,15 environ p. 100 du poids des bacilles bruts secs.	Fraction VII *Albuminoïdes ? Acides aminés.*

Au cours des diverses opérations, il y a des pertes variant de 7 à 2,5 % ; de plus il reste encore après les

diverses opérations un résidu bactérien qui a été peu étudié.

***

Analyse des diverses substances obtenues

I. Hyalinol. — Corps blanc, dur cassant, corné.

Proportion de hyalinol obtenu d'après Goris par rapport au poids total de bacilles bruts secs : de 1,01 à 1,09 %.

Proportion de hyalinol obtenu par rapport au poids des substances solubles dans le chloroforme : de 2,60 à 2,85 %.

Sur 165 grammes de bacilles traités, Goris a obtenu 63 grammes de substances solubles dans le chloroforme, et 1 gr. 80 de hyalinol.

Caractéristiques : soluble dans le chloroforme, insoluble dans l'alcool éthylique, l'alcool méthylique, l'eau, l'éther sulfurique, l'acétone.

Saponifiable. Se dédouble en donnant un acide cristallisé en tables transparentes, à odeur butyrique désagréable, et fondant à 71° après purification. Cet acide est de l'acide crotonique, mêlé d'un peu d'acide isocrotonique. Il se dégage aussi une essence d'odeur agréable.

Composition du hyalinol en poids : C = 55,50 % ; H = 7,15 % ; O par différence = 37,35 %.

Hyalinol = Ether de nature spéciale.

II. Mélange de cire et d'autres corps. — Proportion de mélange cireux obtenu d'après Goris par rapport au poids total des bacilles bruts secs : 4,24 à 4,65 %.

Proportion de mélange cireux obtenu par rapport au poids des substances solubles dans le chloroforme : 11,66 à 12,20 %.

Il s'agit d'un mélange complexe d'aspect résineux.

Caractéristiques : soluble dans le chloroforme ; insoluble dans l'eau ou l'acétone froid ou bouillant (19), partiellement soluble dans l'alcool éthylique ; soluble dans l'éther sulfurique. On a pu y mettre en évidence S, P, N, des traces de chaux et de magnésie.

Goris y a décelé : *une phosphatide en petite quantité* (est précipitée par l'acétone).

Un produit sulfuré inconnu en petite quantité.

Une substance ressemblant au mykol (20) de Sakae Tamura, et mise en évidence de la manière suivante : « 9 grammes de la fraction II sont dissouts dans « l'éther, on y ajoute 200 grammes d'alcool à 95° con- « tenant 5 grammes de soude caustique. (Il se forme « tout de suite un précipité qui va s'agglomérer dans le « fond du ballon et qui est en grande partie constitué « par du chlorure de sodium.) On chauffe au réfrigé- « rant à reflux pendant six heures. La solution alcoo- « lique provenant de la saponification se prend en une « gelée que l'on sépare par filtration. Il reste sur le filtre « une masse blanche qu'on lave à l'eau et que l'on sèche « dans le vide sulfurique. On obtient une quantité assez

(19) L'acétone précipite les lécithines de la totalité des substances lipoïdes dissoutes par le chloroforme.

(20) Il est à noter qu'à côté du mykol, Goris a cru déceler la présence de cholestérol en très faible quantité (solution chloroformique des lipoïdes du B. K. donne avec SO^4H^2 concentré une réaction rappelant celle du cholesterol : SO^4H^2 se colore en jaune, la solution chloroformique surnageante se colore faiblement en violet).

« considérable de ce produit. Son point de fusion est « 64° ; ce serait un alcool correspondant au mykol « (Goris). »

Enfin, dans la solution alcoolique, Goris a mis en évidence un mélange d'*acides stéarique* et *palmitique*, qui existeraient dans la cire sous forme de stéarate et de palmitate de mykol. Il a décelé aussi la présence d'un autre alcool à point de fusion plus élevé à 100°.

III. Cire pure (fraction III). — Proportion de fraction III obtenue d'après Goris par rapport au poids total des bacilles bruts secs : 2,5 à 3 %.

Proportion de fraction III obtenue par rapport au poids des substances solubles dans le chloroforme : 6,6 à 6,9 %.

Caractéristiques : soluble dans le chloroforme, l'éther, l'alcool à 95°. Soluble dans l'acétone bouillant, insoluble dans l'acétone à froid. Point de fusion 44°.

Par saponification (la substance étant dissoute dans l'éther et la solution étant additionnée d'alcool à 95° contenant de la soude ou de la potasse), on différencie une substance insaponifiable qui reste dans le fond du ballon et des savons qui demeurent dissouts.

La substance insaponifiable est un alcool.

Le savon transformé en acide gras par HCl est de *l'acide laurique*, dont il a les caractéristiques.

La substance insaponifiable, redissoute dans le chloroforme, donne après évaporation du solvant une substance dure et cassante. Celle-ci redissoute dans l'éther est ensuite resaponifiée en milieu alcoolique pour s'assurer que toute la cire a été bien décomposée. On obtient

après séparation de la solution alcoolique une substance, qui est un alcool dont le point de fusion après purification s'est élevé à 64°.

C'est donc un corps analogue au *Mykol* de SAKAE TAMURA.

L'acide laurique est donc un des constituants de cette cire où il se trouve combiné avec le mykol, sous forme d'un éther-sel, le *laurate de mykol.*

IV. Matières grasses (fraction IV). — Proportion de fraction IV obtenue d'après GORIS par rapport au poids total des bacilles bruts secs : de 29 à 28 %.

Proportion de fraction IV obtenue par rapport au poids des substances solubles dans le chloroforme : 77 à 74 %.

Caractéristiques : soluble dans le chloroforme, l'éther, l'acétone, à chaud et à froid. La saponification de la matière grasse donne d'une part :

Des savons solubles dans l'eau (21), d'autre part deux substances insaponifiables :

1° Une substance odorante en faible quantité ;

2° Un alcool solide en proportion plus élevée qui, après purification se révèlera être du *mykol.*

La solution aqueuse de savons traitée par l'acétate de plomb donne un précipité, dont une partie est soluble dans l'éther et l'autre insoluble.

En dernière analyse et après des manipulations nombreuses, on trouve :

a) Que les acides gras isolés de la fraction IV dont les sels de plomb sont solubles dans l'éther sont : *l'acide*

(21) Voir GORIS, *Ann. de l'Inst. Past.*, t. XXXIV, p. 525 et suivantes.

oléique, *l'acide butyrique*, *l'acide caproïque*, et un autre acide non identifié.

b) Que les acides gras isolés de la fraction IV dont les sels de plomb sont insolubles dans l'éther, sont : *l'acide arachidique*, *l'acide stéarique*, *l'acide palmitique*.

Ces acides existent dans la fraction IV vraisemblablement sous forme d'éthers du mykol.

V. Substance obtenue par le traitement à l'alcool bouillant et déposant par refroidissement (fraction V). — A échappé à l'épuisement préalable par le chloroforme mais est soluble *dans le chloroforme et l'éther*. Peu soluble dans l'alcool et l'acétone. On peut en extraire un peu de phosphatide par l'alcool bouillant. Le résidu est insoluble dans l'alcool. Après évaporation de sa solution chloroformique et lavage à l'eau, donne un corps translucide fondant à 300°. Obtenue en trop petite quantité pour pouvoir être étudiée.

VI. Substance soluble dans l'eau et précipitable par l'alcool = tuberculine brute (fraction VI).

Caractéristiques : soluble dans l'eau. Insoluble dans l'alcool, qui, ajouté à sa solution aqueuse, *la précipite*. Précipitée par l'acide phosphotungstique à 5 %, par le réactif de Tanret, l'acide picrique, le réactif de Courtonne, le réactif de Patein, l'acide chlorhydrique au dixième, l'acide azotique au dixième. La réaction de Millon est positive, la réaction du *biuret* est négative.

C'est une nucléo-protéine, car on y décèle de l'azote et du phosphore. Cette substance présenterait d'après Goris les propriétés de la tuberculine brute de Koch. Nous reviendrons ultérieurement sur ses propriétés

biologiques, quand nous étudierons les poisons exogènes du bacille de Koch dits tuberculines.

VII. Substance soluble dans l'eau et non précipitable par l'alcool (fraction VII). — On évapore la solution hydroalcoolique. On a pu y caractériser quelques acides aminés tels que la tyrosine, la leucine, le tryptophane. Son étude n'a pas été poussée plus loin.

(Voir pages suivantes les tableaux 3, 4 et 5.)

Nous allons maintenant en nous référant aux tableaux 3, 4, et 5 et en prenant comme base la technique de Goris, qui, parmi toutes celles qui ont été expérimentées, est assurément une des plus rationnelles et des plus logiques, et que nous considérons par conséquent comme *fondamentale*, tenter de comparer les résultats obtenus par Goris à ceux obtenus par quelques autres auteurs.

Nous devrons tenir compte, bien entendu, des variations liées *à l'ordre dans lequel on aura employé les divers solvants*, au choix de ces solvants et à la manière dont on les aura fait agir, c'est dire que nous devrons tenir compte *des variabilités de solubilité possibles des diverses substances selon les complexes variés auxquels elles peuvent être incorporées et selon par conséquent la méthode de fractionnement adoptée* ; chacun des différents solvants en effet peut extraire selon les cas des complexes de substances particuliers. Ces réserves étant faites, nous constaterons d'une manière générale, qu'en ce qui concerne les travaux ayant porté sur des bacilles tués à 100°, ayant poussé sur bouillon glycériné, et soigneusement débarrassés, et autant qu'il est possible par des lavages suc-

TABLEAU 3. — *Fractions lipoïdes et autres isolées par Goris du B. K.* (Proportions) (22)

Fractions	N°	Proportion par rapport au poids des bacilles bruts secs	Proportion par rapport au poids des substances solubles dans le chloroforme
Hyalinol	Fraction I	De 1,01 à 1,09 %	De 2,60 à 2,85 %
Mélange de cire et d'autres corps.	Fraction II	De 4,24 à 4,65 %	De 11,66 à 12,20 %
Cire pure.	Fraction III	De 2,5 à 3 %	De 6,6 à 7,9 %
Matières grasses	Fraction IV	De 29 à 28 %	De 77 à 74
Substance obtenue par le traitement à l'alcool du résidu insoluble dans le $CHCl^3$ (Substance soluble dans $CHCl^3$, mais ayant échappé au traitement parle chloroforme).	Fraction V	Pourcentage non établi Substance obtenue en très petite quantité)	
Substances albuminoïdes précipitées leur solution aqueuse par addition d'alcool (Tuberculine brute).	Fraction VI	1,20 % du poide des bacilles secs	
Substances albuminoïdes solubles dans la solution hydro-alcoolique.	Fraction VII	4,12 à 4,15 % du poids des bacilles secs	

(22) Au cours des diverses opérations, il se produit des pertes plus ou moins importantes, par exemple pour 165 grammes de bacilles bruts secs, les pertes ont été de 12 grammes de bacilles.
Pour 1180 grammes de bacilles bruts secs, les pertes ont été de 30 grammes de bacilles.

cessifs, du milieu de culture, les différents auteurs *ont pu* obtenir par les divers solvants, les substances indiquées au tableau (ce tableau n'indique évidemment que des probabilités).

TABLEAU 4

Tableau général des substances extraites du B. K.

(Souche humaine et bovine, Institut Pasteur
Culture sur bouillon glycériné ayant servi à la préparation de la tuberculine brute.)

Par la méthode de GORIS.

Chloroforme (Dissout les lipoïdes du B. K.).	Fraction I.	Hyalinol.
	Fraction II (Mélange de cires et d'autres corps).	Phosphatide Produit sulfuré inconnu (en petite quantité). Mykol Stéarate et palmitate de mykol.
	Fraction III (Cire pure).	Laurate de Mykol.
	Fraction IV (Matières grasses).	Mykol et Ethers du Mykol, dérivés des acides oléïque, butyrique, caproïque, arachidique, palmitique, stéarique.
Alcool éthylique (dissout lipoïdes non encore extraits par le chloroforme).	Fraction V	Phosphatide. Substance non caractérisée.
Eau (Précipitation par l'alcool).	Fraction VI	Nucléoprotéïne : Tuberculine brute.
Eau (Pas de précipitation par l'alcool).	Fraction VII	Acides aminés (leucine, tyrosine, tryptophane, etc.).

TABLEAU 5. — *Tableau des solubilités des fractions extraites du B. K. par la méthode de Goris* (23)

Fractions bacillaires / Solvants	$CHCl^3$	Alcool éthylique	Alcool méthylique	Ether sulfurique	Ether de pétrole	Acétone	Toluène	Benzène	Eau
I) Hyalinol	+	—	—	—	?	—	?	?	—
II) Mélange cireux	+	Partiellement +	?	+	?	—	?	?	—
II') Mykol isolé de II, III et IV	+	Difficilement +	Difficilement +	+	+	+ ?	?	?	—
III) Cire (Laurate de Mykol)	+	+ dans alcool à 95°	?	+	?	+ dans acétone bouillant	?	?	—
IV) Matières grasses (Mykol et éthers du mykol)	+	Difficilement +	Difficilement +	+	?	+ à chaud et à froid	?	?	—
V) Phosphatides isolés de II et V	+	+	+	+	?	Leur solution chloroformique est précipitée par l'acétone	?	?	—
V) Fraction V	+	Faiblement + dans alcool bouillant		+	?		?	?	—
VI) Nucléoprotéïne (Tuberculine brute)	—	—	—	—	—	—	—	—	+
VII) Acides aminés	—	Sa solution aqueuse ne précipite pas par l'alcool		—	—	—	—	—	+

(23) Nous désignerons par le signe + la solubilité, par le signe — l'insolubilité.

Tableau 6

Tableau des substances qui sont peut-être contenues dans les divers extraits obtenus par les divers auteurs ayant soumis les B. K. à divers solvants, les résultats des recherches de Goris *étant connus.*

1° *Par le chloroforme* (Auclair et Paris. A. Frouin, etc).	Du hyalinol, des cires.	Ethers du mykol (stéarate, palmitate de mykol, etc.), mélangés de mykol pur.
	Une matière colorante?	
	Des phosphatides.	
	Des substances inconnues.	
2° *Par l'alcool éthylique* (Hammerschlag, Kurt Meyer, Boquet et Nègre, etc.) *et l'alcool méthylique*, (Petroff, Boquet et Nègre, etc.). (Boquet et Nègre emploient l'alcool méthylique à 99°).	Des cires.	Ethers du mykol et mykol (en petite quantité).
	Des phosphatides.	
	Une matière colorante?	
	Des substances protéïques ? (24).	
3° *Par l'éther sulfurique* (Hammerschlag, Auclair et Paris, Dorset et Emery, etc.).	Des cires.	Ethers du mykol (stéarate, palmitate, laurate de mykol).
	Du mykol pur.	
	Des phosphatides.	
	Des substances inconnues.	
4° *Par l'acétone à chaud* (Kurt Meyer, A. Frouin, etc).	Des cires.	Ethers du mykol, du mykol ?
	Des phosphatides.	
4° *Par l'éther de pétrole* (Auclair et Paris, etc.).	Des cires.	Ethers du mykol.
	Du mykol.	
5° *Par le xylol* (E. Roux et A. Borrel, T. B. Johnson, E. B. Brown, etc.).	Aussi vraisemblablement des cires, du mykol et des phosphatides.	
6° *Par l'eau.*	Des nucléo-protéïdes.	
	Des acides aminés.	
	Des substances protéïques diverses.	

Pour la clarté de l'exposé, nous avons laissé de côté dans ce tableau un grand nombre de solvants ou de mélange de solvants possibles.

(24) Mayer et Terroine ont montré que les phosphatides peuvent être étroitement associés aux protéïnes et former avec elles des *complexes solubles dans l'alcool.* On comprend que la préparation des phosphatides à l'état de *pureté absolue* soit difficile.

Tous ces résultats n'ont évidemment rien d'absolu, d'autant plus que, d'une part, les opérations de Goris et les nôtres n'aboutissent parfois qu'à des séparations imparfaites et que, d'autre part, répétons-le, des techniques différentes employées avec les mêmes produits sont susceptibles de donner des résultats différents.

Nous ne présentons au lecteur ce tableau récapitulatif que pour tenter de lui donner un fil directeur, si imparfait soit-il, dans un dédale de faits et d'expériences disparates.

Si maintenant on compare les résultats qu'ont obtenus Auclair et Paris en employant la technique que nous avons exposée plus haut (Chapitre I) à ceux obtenus par Goris, on constate que les résultats obtenus par les uns et les autres, coïncident dans leurs grandes lignes, avec cette différence toutefois, que Goris a pu pousser l'analyse chimique beaucoup plus loin que ses prédécesseurs. Auclair et Paris avaient signalé la présence d'alcaloïdes. Ces substances n'ont pas été retrouvées par Goris.

Nous ne nous attarderons pas aux constatations isolées faites par les divers auteurs. *Ce qui importe surtout ce sont les points communs entre les différentes recherches.* Il ressort des exposés précédents, que le mykol et ses éthers sont parmi les constituants les plus importants des matières grasses des bacilles tuberculeux. Ce mykol qui est un alcool complexe, semble avoir été trouvé aussi par W. Bulloch et J. R. Macleod (*Journ. of Hyg.*, 1904, t. IV, I) qui, étudiant les graisses du B. K. extraite par l'alcool méthylique ont pu par saponification isoler un alcool, auquel ils attribuent en dernière analyse la

propriété acido-résistante du B. K. (*propriété attribuée par* SAKAE TAMURA *et* GORIS *au mykol et à ses éthers*).

Le hyalinol, d'autre part, bien qu'obtenu en petite quantité, est susceptible de se révéler être un corps des plus intéressants tant chimiquement que biologiquement.

Il nous faut maintenant rendre compte de quelques travaux intéressants de certains auteurs américains. Malgré les différences de méthodes employées, nous nous efforcerons d'établir entre les expériences de GORIS et les leurs les correspondances qui s'imposent. Nous pourrons mettre ainsi en harmonie les diverses recherches et établir en quoi les plus récentes complètent ou infirment celles qui les ont précédées.

Les auteurs américains parlent comme GORIS, leur prédécesseur, de cires, de matières grasses, de phosphatides, etc. Ils désignent aussi sous le terme résidu insaponifiable des complexes comprenant des alcools à poids moléculaire élevé, comparables dans une certaine mesure au mykol.

C'est surtout R. J. ANDERSON qui par un magnifique travail, longtemps et studieusement poursuivi, avec de grands moyens, a poussé le plus loin le fractionnement et l'analyse chimique des lipoïdes du bacille de KOCH. Nous devons consacrer à ses recherches et à sa technique un chapitre spécial.

CHAPITRE III

LES LIPOÏDES DU BACILLE DE KOCH LA TECHNIQUE DE R. J. ANDERSON (25) ET SES RÉSULTATS

R. J. Anderson a travaillé sur des bacilles vivants *ayant poussés sur le milieu synthétique* de Long (26), ce qui constitue un progrès sur le travail de Goris, qui n'a opéré que sur des bacilles morts ayant poussés sur bouillon glycériné.

R. J. Anderson a pu opérer sur un matériel extrêmement abondant (2.200 *cultures sur milieu synthétique, représentant chacune* 200 *cc. environ de milieu*).

Les bacilles ont été réunis d'abord dans de grands filtres de Buchner, et lavés à l'eau ; puis placés encore humides dans un mélange consistant en parties égales d'alcool à 95 % et d'éther où ils furent laissés environ quatre semaines.

Nous avons synthétisé les diverses opérations qu'a pratiquées R. J. Anderson dans le tableau 7.

(25) R. J. Anderson, *The separation of lipoid fraction from tubercle bacilli.* (*J. Biol. Chemistry.*, t. LXXIV, p. 534, juillet 1927,

TABLEAU 7

Substances extraites des bacilles de Koch humains vivants, ayant poussé sur milieu synthétique de LONG, *selon la technique de* R. J. ANDERSON.

B. K. encore humides après lavage à l'eau.

Traitement par l'Alcool-Ether à parties égales pendant 4 *semaines* (Agitation fréquente).

Filtration sur filtre de Buchner.

Extrait soluble dans l'alcool-Ether.
(Liquide jaune paille).

Evaporation de l'Ether dans un courant d'acide carbonique.

Distillation incomplète de l'Alcool sous pression réduite.

Il reste un mélange d'alcool et d'eau contenant en suspension un résidu lipoïdique.

Redissolution de ce résidu dans l'Ether par agitation du mélange hydro-alcoolique avec de l'Ether. — On laisse reposer. — L'Ether surnage et est décanté. — On obtient

d'une part

Liquide décanté = *Solution Ethérée.*
Contient les lipoïdes solubles dans l'Ether.

On concentre la solution éthérée. A un certain degré de concentration, on ajoute une quantité égale d'acétone. Il se forme un précipité — Le liquide surnageant est décanté.

Ce précipité est lavé plusieurs fois à l'Acétone. Le liquide de lavage est ajouté à la solution déjà décantée

Ce liquide est concentré par distillation et le résidu est séché dans un courant d'acide carbonique. On obtient une huile brun-noir (Acetone-soluble fat de R. J. Anderson).
= *Fraction* A_5.

Précipité = Mélange de Phosphatides et de cires.

Purification par précipitations successives (5 fois) par l'acétone de ce mélange redissous dans l'Ether. La dernière précipitation est faite par l'Acétone à la T° de la glace. On obtient un précipité et on décante la liqueur surnageante qui est formée d'un mélange d'Ether et d'Acétone contenant des produits en dissolution. Cette liqueur est refroidie pendant quelque temps dans un mélange de glace et de sel. Il se sépare un précipité blanc que l'on lave et que l'on sèche :

Ce précipité est lavé et séché. On a la *Fraction* A_3 (= « First crude phosphatide » de R. J. Anderson). (Est insoluble dans l'Acétone).

Poudre non hygroscopique.

= *Fraction* A_4.

d'autre part

Solution hydro-alcoolique.

On ajoute comme déféquant un léger excès de solution d'acétate de plomb à 20 %.

Il se produit un précipité.
On filtre. *Le Précipité est rejeté.*

Filtrat.

Le filtrat est débarrassé du plomb par H^2S, filtré, et concentré par distillation sous pression réduite.

La solution concentrée est additionnée d'une solution de chlorure mercurique à 10 % dans l'Alcool à 95°, aussi longtemps qu'il se produit un précipité.

On centrifuge. On décante la liqueur surnageante.

Le précipité est lavé à l'eau, mis en suspension dans l'eau et *décomposé* par l'hydrogène sulfuré. Il se produit un précipité de sulfure de Hg, qui est séparé par filtration et rejeté.

Le filtrat est concentré dans le vide et finalement séché dans un dessicateur à Acide sulfurique.

On obtient une substance semi cristalline.

= *Fraction* A_7.

Cette liqueur est débarrassée de l'excès de Hg par H^2S
Il se produit un précipité *qui est rejeté* après filtration.

Le *filtrat* est concentré dans le vide.

La solution concentrée est additionnée d'Acide sulfurique jusqu'à ce qu'elle contienne 5 % d'Acide sulfurique.

On ajoute une solution d'Acide phosphotungstique contenant 5 % de SO^4H^2. Il se produit un précipité.
On ajoute cette solution d'Acide phosphotungstique contenant 5 % de SO^4H^2 jusqu'à ce qu'il ne se produise plus de précipité. On filtre.

Le précipité est recueilli sur un filtre de BUCHNER. On le lave avec SO^4H^2 à 5 %.

On le décompose avec un excès d'Hydroxyde de Baryum. Il se produit un précipité barytique qui est recueilli par filtration et rejeté.

Le filtrat est débarrassé de l'excès de Baryum par SO^4H^2. Il se produit un précipité de sulfate de Baryum, qui est séparé et rejeté. Après cette séparation, la solution est concentrée dans le vide.

On obtient un résidu sirupeux à réaction fortement alcaline. On neutralise avec HCl et finalement on évapore à siccité dans un dessicateur à Acide sulfurique.

Substance semi-cristalline
= *Fraction* A_9.

Le filtrat est additionné d'un léger excès d'Hydroxyde de Baryum.

Il se produit un précipité de phosphotungstate et de sulfate de Baryum qui est séparé par filtration et rejeté.

Le filtrat est débarrassé de l'excès de Ba par SO^4H^2. Il se produit un précipité qui est enlevé par filtration et rejeté.

Le filtrat est concentré dans le vide.

La solution concentrée est additionnée d'Acétate de Pb en léger excès.

Il se forme un précipité de chlorure de Pb qui est séparé par filtration et rejeté.

Le filtrat est additionné d'Acétate basique de Pb jusqu'à ce qu'il ne se produise plus de nouvelle précipitation. On a une liqueur avec un précipité blanc.

Le mélange est rendu fortement alcalin par l'Ammoniaque. On le laisse reposer une nuit. On filtre le mélange. Le précipité blanc est réuni sur un filtre de BUCHNER. Le filtrat est rejeté.

Le précipité blanc est lavé à l'eau, mis en suspension dans l'eau et décomposé par H^2S. Il se produit un précipité noir de sulfure de plomb — ce précipité est séparé par filtration et rejeté.

Le filtrat, qui contient en solution la fraction que l'on veut isoler est concentré dans le vide et finalement placé au dessicateur à vide jusqu'à obtention d'une *épaisse masse sirupeuse.*

Cette masse est broyée dans un mortier avec une grande quantité d'alcool absolu.

On obtient, l'alcool absolu absorbant l'eau, une poudre blanche.

Cette poudre est séparée par filtration, lavée à l'alcool et séchée.

= *Fraction* A_8
(*Polysaccharide stable* — Soluble dans l'eau. Très peu soluble dans l'alcool.
En solution aqueuse, et après avoir été mise à bouillir 5' avec HCl dilué, donne lourde réduction avec la liqueur de FEHLING).

Résidu Insoluble ----------→ Protéïne 304 A (?) de T. B. JOHNSON.

Traitement par le chloroforme (4 semaines. On agite de temps en temps).

Filtration sur filtre de BUCHNER.

Solution chloroformique

Concentration par distillation.

Le résidu est séché dans un courant d'Acide carbonique.

On obtient une cire jaune clair.

= *Fraction* A_6

Donnera par précipitations successives de ses solutions dans l'Ether pur, puis dans le Toluène par l'Alcool Méthylique, 2 fractions.

L'une précipitée

= *Cire purifiée* (*Purified Wax*).

L'autre restée soluble dans les liqueurs mères.

= *Cire douce* (*Soft Wax*).

Résidu bactérien insoluble dans le chloroforme.

Soumis à une deuxième extraction par le $CHCl^3$ d'une durée d'une semaine. Le $CHCl^3$ contenant encore des produits solubles est séparé par filtration et joint à la solution chloroformique.

Le résidu est lavé au chloroforme et séché. On a une poudre grise.
= *Fraction* A_{10}
(Acides nucléïques. Protéïnes etc.).

On voit donc, d'après le tableau 7, qu'après des manipulations multiples, R. J. Anderson est arrivé à isoler 8 fractions distinctes. Il est à noter qu'afin d'éviter des oxydations toutes les opérations ont été effectuées *sous une atmosphère d'acide carbonique*, avec rigoureuse exclusion d'air. Les diverses fractions ont été extraites sous les proportions suivantes pour un poids total de bacilles de 3.868 gr. 5.

Fractions lipoïdes, et autres composés, séparés par R. J. Anderson *de* 2.000 *cultures de bacilles tuberculeux.*

Fraction	N°	Poids en gr.
1re phosphatide	A_3	148 gr. 5
2e phosphatide	A_4	104 gr. 6
Graisse soluble dans l'acétone	A_5	240 gr. 0
Cire soluble dans le chloroforme	A_6	427 gr. 0
Base précipitée par $HgCl^2$	A_7	7 gr. 2
Base précipitée par l'acide phosphotungstique	A_9	5 gr. 3
Polysaccharide	A_8	33 gr. 9
Résidu bactérien sec	A_{10}	2902 gr. 0
Poids total		3868 gr. 5

t. LXXXV, p. 77-88 ; p. 327-338 ; p. 339-349 ; p. 351-354, 1929, t. LXXXV, p. 509-517, 529, 538, janvier 1930.

(26) Milieu de Long et Seibert, Formule :

Asparagine	5 grammes
Citrate d'ammoniaque	5 »
Phosphate acide de K	3 »
Carbonate de Na anhydre	3 »
NaCl	2 »
Sulfate de Mg	1 »
Citrate de fer ammoniacal	0 gr. 05.
Glycérine	50 grammes
Eau	1 000 grammes

R. J. Anderson a voulu pousser plus loin l'analyse de quelques-unes des substances obtenues.

A_3 et A_4. — Après des purifications par précipitations répétées et hydrolyse, R. J. Anderson a trouvé que les fractions A_3 et A_4 étaient sensiblement identiques, la proportion de N et de P qu'elles contenaient étant la même.

A_3. — Après hydrolyse et fractionnement de A_3, la composition suivante fut trouvée : Sur 100 parties de phosphatide :

Acide palmitique	30,5	parties
Acide oléique, après réduction en acide stéarique	12,8	»
Acide gras liquide saturé inconnu	20,9	»
Glucose	12,9	»
Acide inconnu de poids moléculaire élevé	13,8	»
Acide glycérophosphorique	5,4	»

A_4. — A_4 fut mis en suspension fine dans 500 cc. d'eau. On ajouta 30 grammes d'acide sulfurique concentré. Un lourd coagulum se sépara par le chauffage. Le mélange fut mis à bouillir sous un condensateur à reflux jusqu'à ce que le coagulum ait été converti en une couche huileuse. Après huit heures et demie d'ébullition et six heures de reflux, on laissa le mélange se refroidir.

Les acides gras furent extraits en agitant le mélange avec 3 parties d'éther. Les extraits éthérés furent mélangés et lavés à l'eau, les eaux de lavage étant ajoutées à la solution aqueuse principale, dont les extraits éthérés avaient été séparés par décantation. Cette solution aqueuse contenait les constituants solubles dans l'eau, qui ainsi qu'Anderson l'a déterminé, sont constitués

par des hydrates de carbone, et de l'acide glycérophosphorique.

Les solutions éthérées une fois lavées furent filtrées et l'éther fut distillé. Le résidu consista en un mélange d'acides gras bruts, formant une masse brune cristalline, après avoir été séché au dessicateur à vide. C'est de ce mélange qu'après des fractionnements compliqués, R. J. Anderson a pu isoler un nouvel acide gras saturé, qu'il a appelé *acide phtioïque*. Cet acide est optiquement actif (dextrogyre. Sa rotation spécifique en solution alcoolique est d'environ +1°,5 à 1°,6). Quoique sa formule n'ait pas été définitivement déterminée, la composition et le poids moléculaire indiquent qu'il doit contenir au moins 20 atomes de C dans sa molécule. L'acide phtioïque est soluble en toutes proportions dans l'alcool, et les solvants organiques. Il est insoluble dans l'eau. Il possède d'importantes propriétés biologiques sur lesquelles nous insisterons dans la troisième partie de cet ouvrage.

Sur 35 gr. 9 de phosphatide A_4, R. J. Anderson a trouvé 23 gr. 9, soit 66,5 % de mélange d'acide gras. L'analyse de ce mélange a donné :

Acide palmitique brut.....	8 gr. 6 ou 26,6 %	du total de la phosphatide
Cire insoluble dans l'alcool ..	1 gr. 4 ou 3,9 %	»
Acide stéarique par réduction	4 gr. 3 ou 11,9 %	»
Acide phtioïque.....	8 gr. 2 ou 22,8 %	»

A_5. *Cire soluble dans l'acétone.* — Comprend des acides gras libres (27) ;

(27) Il a été rapporté par divers auteurs qu'une importante proportion d'acides gras libres était contenue dans les consti-

Des éthers d'alcool à poids moléculaire élevé (on ne trouve en effet qu'une petite partie de glycéride).

La nature du principal composé alcoolique n'a pas pu être déterminée : il s'agit vraisemblablement d'un alcool polyhydrique, rentrant dans le groupe des hydrates de carbone (28). Les acides gras consistent en acides gras solides saturés, en acides non saturés, et en acides saturés liquides.

Les acides gras saturés solides consistent en :

Acide palmitique avec une petite quantité d'acide stéarique, et une très petite quantité d'acide cérotique.

L'acide non saturé est probablement l'acide linoléïque.

Les acides gras liquides (45 % du total des acides gras) consistent en :

un faible pourcentage d'acide linoléique, et en un acide gras saturé particulier, huileux à la température du laboratoire.

tuants éthéro-solubles. Les résultats de R. J. Anderson et de son collaborateur E. Chargaff confirment pleinement ces affirmations. Ils ont trouvé qu'environ 27 % de la graisse des bacilles tuberculeux étaient composés d'acides gras libres. Albert Frouin et Mlle Guillaumie (*C. R. Soc. Biol.*, 1923 t. LXXXIX p. 319) ont constaté cependant que les acides gras libres font totalement défaut dans les extraits acétoniques de bacilles tuberculeux non chauffés. D'après eux, leur présence qui a été signalée par plusieurs expérimentateurs doit être imputée à la saponification des glycérides bacillaires au cours de la stérilisation des cultures. Pour R. J. Anderson, et son collaborateur E. Chargaff, qui ont d'ailleurs opéré sur des bacilles vivants ayant poussé sur milieu synthétique, on ne peut trancher avec certitude si ces acides existent à l'état libre dans les bacilles ou s'ils sont formés par décomposition ou saponification. Il leur semble toutefois peu vraisemblable que la méthode qu'ils ont employée pour isoler la graisse *et qui n'exerce aucune action brutale* puisse causer une décomposition aussi étendue.

(28) On sait que les sucres comportent plusieurs fonctions alcools ; par exemple une hexose, telle que le glucose

$$CH^2OH — CHOH — CHOH — CHOH — CHOH — COH$$

est 5 fois alcool et 1 fois aldéhyde.

Cet acide est optiquement actif. Il posséderait en outre l'importante propriété biologique de stimuler la prolifération des histiocytes et la formation des cellules épithélioïdes (nous reviendrons sur cette propriété particulière dans la troisième partie).

Par distillation fractionnée des éthers méthyliques des *acides gras saturés liquides* provenant des graisses bacillaires solubles dans l'acétone, deux acides gras nouveaux ont été isolés :

Un acide liquide à la T° ordinaire, répondant à la formule $C^{18}H^{36}O^2$, isomère de l'acide stéarique, d'où le nom d'acide tuberculostéarique qui lui fut donné. Cet acide optiquement inactif, est dépourvu de toute action biologique. Le deuxième acide est solide à la température ordinaire (point de fusion 28°). Il est isomère de l'acide cérotique et correspond à la formule $C^{26}H^{52}O^2$. C'est l'acide phtioïque, optiquement actif.

A6. *Constitue la fraction soluble dans le chloroforme.* — La cire brute obtenue de la solution chloroformique fut purifiée par redissolution dans l'éther pur, puis dans le toluène et précipitée successivement de ces solutions par l'alcool méthylique. Ce traitement fournit une poudre blanche, amorphe, qui représentait environ 78 % de la matière originelle, et qui fut appelée « cire purifiée » (purified wax). La portion la plus soluble de la cire brute a été obtenue à partir des liqueurs mères, et on a eu ainsi une masse jaunâtre, molle à la température ordinaire qui a été désignée sous le nom de « cire douce » (soft wax).

A) **Cire purifiée** (Purified wax). — La cire purifiée diffère par la composition et les propriétés des cires

habituelles. La substance fond en se décomposant entre 200 et 205°. Par hydrolyse, elle fournit environ 71 % de constituants solubles dans l'éther, et près de 40 % de constituants solubles dans l'eau. Les constituants éthéro-solubles équivalent à environ 56 % de la cire brute totale ; ils contiennent en grande proportion une *substance insaponifiable* qui consiste en une poudre amorphe d'un blanc neige possédant à la fois des propriétés acides et alcooliques. Cette substance a été désignée sous le nom de « cire ou de résidu insaponifiable ».

Par ailleurs les constituants éthéro-solubles de la cire purifiée contiennent une petite quantité d'acides gras.

Résidu insaponifiable. — Ce résidu insaponifiable diffère du mykol de Sakae Tamura parce qu'il ne donne pas de dérivé bromé défini. C'est un produit très complexe de poids moléculaire élevé, *très stable*, et possédant à la fois des groupements carboxyle et des groupements alcool. Ce produit se décompose sous l'influence de la chaleur en donnant un acide gras supérieur et une substance neutre non volatile. Seule de toutes les substances grasses du bacille tuberculeux, *elle manifeste l'acido-résistance caractéristique du bacille tuberculeux.*

Par distillation dans le vide, le résidu bacillaire insaponifiable se décompose en donnant un acide $C^{28}H^{52}O^2$ qui fond à 88 89°, et qui correspond à l'acide « Hexaco sanique ».

Les acides gras d'autre part qui ont été isolés dans les constituants éthéro-solubles de la cire purifiée sont vraisemblablement les suivants : de l'acide cérotique,

probablement un mélange d'acides stéarique et palmitique, d'acide oléique, et un acide gras saturé liquide analogue à l'acide phtioïque.

Parmi les constituants solubles dans l'eau, de la cire purifiée on a trouvé de l'acide glycérophosphorique, réduisant les sucres qui donnent les réactions des pentoses et un composé azoté qui n'a pu être identifié.

Il ressort avec évidence, étant donnés les produits qui ont été obtenus par hydrolyse de la cire purifiée, que cette dite cire n'est pas une cire dans le sens ordinaire du terme, mais qu'elle représente une phosphatide complexe, contenant une large proportion d'hydrates de carbone combinés dans sa molécule.

B) **Cire douce** (soft wax). — R. J. Anderson a établi qu'il s'agissait d'un glycéride complexe.

Après saponification, les produits de clivage ont été séparés en :

5,48 % d'un produit sirupeux soluble dans l'eau et dans l'alcool qui donne la réaction de l'acroléine et contient probablement de la glycérine ;

95,39 % de produits solubles dans l'éther.

Ces derniers contiennent :

13,59 % d'une substance neutre aromatique ;

12,29 % de cire ou résidu insaponifiable ;

69,51 % d'acides gras bruts.

Ces acides gras ont été séparés en :

Acides gras solides saturés de point de fusion 56-57°, formés d'un mélange d'acide palmitique et d'acide téarique, et en acides gras liquides, contenant une petite quantité d'acides gras non saturés et un pourcentage

élevé d'acide gras saturé liquide qui se montre optiquement actif et possède des propriétés biologiques analogues à celles de *l'acide phtioïque.*

Toutes les fractions lipoïdes qui ont été isolées à partir du bacille tuberculeux, par R.J. Anderson ont été essayées biologiquement dans le laboratoire du Dr Sabin à l'Institut Rockfeller. Nous rendrons compte dans la troisième partie de l'ouvrage des expériences qui y ont été pratiquées et de leurs résultats.

Disons tout de suite cependant, que dans ces expériences on trouva que la cire purifiée (purified wax) provoquaient une réaction analogue à celle de la phosphatide (A_3 ou A_4). Et comme il a été montré par ailleurs que le principe actif de la phosphatide comporte un nouvel acide gras saturé liquide appelé *acide phtioïque* il était intéressant de retrouver dans le mélange d'acide gras obtenu à partir de la cire purifiée (purified wax) ou de la cire douce (soft wax), un acide semblable à l'acide phtioïque et de vérifier que cette substance entraînait aussi la formation artificielle de tissu tuberculeux avec réaction histiocytaire marquée, formation de cellules épithélioïdes et de cellules géantes.

A_8. — Par des précipitations successives décrites dans le tableau 7, R. J. Anderson a isolé la fraction A_8. Il a reconnu qu'il s'agissait d'un polysaccharide stable, soluble dans l'eau, très peu soluble dans l'alcool. En solution aqueuse et après avoir été mis à bouillir 5 minutes avec HCl dilué, il donne une lourde réduction avec la liqueur de Fehling.

A_7 et **A_9** sont des bases, de composition non encore

Tableau 8

Tableau général des substances isolées par la technique de R. J. Anderson *des bacilles tuberculeux ayant poussé sur milieu synthétique de* Long, *et de leur composition.*

Sur cent parties de Phosphatide.

A_3

- Acide palmitique 30,5
- Acide oléïque après réduction en Acide stéarique 12,8
- Acide gras liquide saturé (désigné sous le nom de Acide gras I) 20,9
- Glucose 12,9
- Acide inconnu de poids moléculaire élevé 13,8
- Acide glycérophosphorique 5,4

(La Phosphatide A_3 contient vraisemblablement parmi ses acides gras, l'Acide Phtioïque).

A_4 Sensiblement même composition. Du mélange d'Acides gras, R. J. Anderson a pu isoler *l'Acide phtioïque*, optiquement et biologiquement actif.

A_5

- Acides gras saturés solides (= Acide gras IV) : Acide palmitique. Acide phtioïque (?). Acide stéarique en petite quantité (tuberculostéarique). Acide cérotique (en très petite quantité).
- Acides gras saturés liquides (= Acide gras V) : Acide linoléique en petite quantité. Acide *phtioïque*. Acide tuberculostéarique.

(Libres ou en combinaison)

- Acide non saturé, probablement : Acide linoléique (en petite quantité).
- Éthers d'alcools à poids moléculaire élevé (combinaison avec les Acides gras). (Parmi les alcools en effet, on ne trouve qu'une petite partie de glycérine).

A_6

Cire purifiée (purified wax)

- *Résidu insaponifiable* — *Possède Acido-Résistance* : (Produit complexe à groupements carboxyle et alcools. (*Poids moléculaire élevé*).
- (Est en combinaison sous forme d'Éthers avec les autres constituants).
- Acides gras (= Acide gras II) : Acide cérotique. Acides stéarique, palmitique, oléïque. *Acide phtioïque*.

(Solubles dans l'Ether.)

Acide glycérophosphorique — Composé azoté inconnu : Solubles dans l'eau.

Produit sirupeux contenant de la glycérine ..... 5,48 %
Résidu insaponifiable ..... 12,29 %
Substance neutre aromatique ..... 13,59 %

Cire douce (Soft wax) = Glycéride complexe.

Acides gras bruts 69,51 % (= Acide gras III)

- Acides gras solides saturés : Acide palmitique. Acide stéarique.
- Acides gras liquides : Acide non saturé (petite quantité). Acide saturé : Acide phtioïque.

A_7 Base non nettement identifiée, précipitable par $HgCl^2$.

A_8 Polysaccharide stable.

A_9 Base non nettement identifiée, précipitable par l'acide phosphotungstique.

A_{10} Contient Acides nucléiques : Protéines du B. K. et peut-être Hydrates de carbone.

déterminée, précipitées, la première par $HgCl^2$, la seconde par l'acide phosphotungstique (voir tableau 7).

A_{10}. Quant à la fraction A_{10}, elle contient toutes les protéïnes du bacille de KOCH, et peut-être des hydrates de carbone ??

R. J. ANDERSON a trouvé une beaucoup plus forte proportion de protéïnes bacillaires que GORIS (voir pages 30 et 37). Cette divergence dans les résultats obtenus par l'un et l'autre de ces auteurs tient peut être à la différence des milieux sur lesquels ont poussé les bacilles et à leur différence d'origine (R. J. ANDERSON : Bacilles vivants ayant poussé sur milieu synthétique de LONG. — GORIS : Bacilles morts ayant poussé sur bouillon glycériné et ayant été séparé du milieu de culture *au cours de la préparation de la Tuberculine O. T.*).

Nous allons un peu plus loin entreprendre l'étude des protéïnes du B. K..

Il nous faut maintenant tenter d'établir des correspondances entre les résultats obtenus par R. J. ANDERSON et ceux obtenus par les auteurs antérieurs, en particulier par GORIS. Mais nous ne devons pas oublier que GORIS a opéré sur un mélange de bacilles morts humains et bovins ayant poussés sur milieu glycériné, milieu qui a été concentré et chauffé pour la préparaion de la tuberculine O. T ; R. J. ANDERSON au contraire a travaillé sur des bacilles vivants humains, ayant poussé sur milieu synthétique de LONG. Cette différence fondamentale dans la matière première a été probablement susceptible d'entraîner pour chacun des opérateurs quelques divergences dans les résultats.

TABLEAU 9

Tableau des solubilités des fractions extraites du B. K. par la technique de R. J. ANDERSON. (29)

Fractions / Solvants	$CHCl^3$	Alcool éthylique	Alcool méthylique	Ether sulfurique	Ether de pétrole	Acétone	Toluène	Benzène	Eau
A_3	+	+	+	+	+ ?	—	+ ?	+ ?	—
A_4	+	+	+	+	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	—
A_5	+	+	+	+	+ ?	+	+ ?	+ ?	—
A_6	+	—	—	+		— (à froid)	+	+	—
A_7	+	+	+	—					—
A_8	—	peu soluble	peu soluble	—	—	—	—	—	+
A_9	— ?	+ ?	+ ?	—					—
A_{10}	—	— ?	— ?	—	—	—	—	—	+
Acide phtioïque	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Résidu insaponifiable	+	—	—	+	+ ?	+ ?	+	+ ?	—

Si on compare les tableaux 4 et 8, on constate qu'il n'y a pas de différence essentielle entre les résultats obtenus par GORIS et ceux obtenus par R. J. ANDERSON. Toutefois ce dernier a poussé l'analyse plus loin que son prédécesseur. Des acides gras, des composés phosphorés ont été isolés par l'un et par l'autre.

Le hyalinol de GORIS devrait théoriquement être

(29) Nous désignerons par le signe + la solubilité.
par le signe — l'insolubilité.

Tableau 10

Tableau des substances qui sont peut-être contenues dans les divers extraits obtenus par les divers auteurs ayant soumis les B. K. à divers solvants, les résultats des recherches de R. J. Anderson *étant connus* (*Cf. Tableau* 6, *page* 33).

1° *Par le chloroforme* (Auclair et Paris, A. Frouin, Goris, etc.	Des cires et des phosphatides.	Des acides gras libres et en combinaison. Éthers d'alcool à poids moléculaire élevé (Stéarate, palmitate, etc.). Acide tuberculostéarique. *Acide phtioïque.* Des composés dans lesquels entre l'Acide glycérophosphorique : Phosphatides. *Du résidu insaponifiable* et ses éthers et composés. Des substances mal définies. (Substances aromatiques, etc.). Des polysaccharides ??
2° *Par l'alcool éthylique* (Hammerschlag, Kurt Meyer, Boquet et Nègre, etc.) et l'*alcool méthylique* (Pétroff, Boquet et Nègre, etc.). Boquet et Nègre emploient l'Alcool méthylique à 99°.	Des phosphatides	Complexes d'acides gras libres et combinés (*acide phtioïque*), d'acide glycérophosphorique en combinaison. De bases mal définies.
	Des cires (Soft wax)	Des glycérides. Du résidu insaponifiable et ses éthers.
	Des bases complexes.	
	Des polysaccharides.	
	Des substances protéiques ? (30).	
3° *Par l'éther sulfurique* (Hammerschlag, Auclair et Paris, etc.)	Des phosphatides	Complexe d'acide gras libres et combinés et de composés dans lesquels entre l'acide glycérophosphorique. *Acide phtioïque.* Acide tuberculostéarique.
	Des cires	Résidu insaponifiable et ses éthers et composés.
4° *Par l'acétone à chaud* (Kurt Meyer, A. Frouin).	Des phosphatides telles que A_4 contenant de l'*Acide phtioïque.*	
	Des cires	Résidu insaponifiable et ses éthers.
5° *Par le toluène et le xylol* (E. Roux et A. Borrel, T. B. Johson et E. B. Brown, etc..	Des phosphatides.	
	Des cires contenant de l'acide phtioïque.	
6° *Par l'eau.*	Des nucléoprotéine.	
	Des acides aminés.	
	Des substances protéïques diverses.	
	Des hydrates de carbone plus ou moins complexes.	
	(Voir Tableau 11, p. 62).	

(30) Mayer et Terroine ont montré que les phosphatides peuvent être étroitement associées aux protéïnes et former avec elles des *complexes solubles dans l'alcool.* On comprend que la préparation des phosphatides à l'état de *pureté absolue* soit difficile.

retrouvé dans la fraction A_6 de R. J. Anderson, si elle était soumise à la technique de Goris pour la préparation du hyalinol.

Il y a correspondance *relative* entre les fractions II, III et IV de Goris et les fractions A_3 et A_4 d'une part; A_5 d'autre part de R. J. Anderson. Mais on retrouve aussi les éléments des fractions II, III, IV de Goris dans la fraction A_6 de R. J. Anderson.

R. J. Anderson a trouvé une proportion plus considérable de phosphatide que Goris.

Parmi les acides gras, R. J. Anderson a pu isoler un acide optiquement et biologiquement, actif, l'acide phtioïque qu'il retrouve dans presque toutes les fractions lipoïdes.

Cet acide serait intéressant à rechercher sur un matériel de bacilles morts, identique à celui sur lequel a travaillé Goris.

Goris et R. J. Anderson ont tous deux mis en évidence un *résidu insaponifiable* : mais tandis que ce résidu avait dans le matériel bacillaire de Goris toutes les caractéristiques du mykol de Sakae Tamura, il s'en révélait sensiblement différent dans le matériel bacillaire de R. J. Anderson Le résidu insaponifiable de R. J. Anderson ne donne pas comme le mykol de dérivé bromé défini. Toutefois si l'on compare les tableaux de solubilité du mykol et de l' « unsaponifiable wax » d'Anderson (voir tableaux 5 et 9) on constate que leurs solubilités sont assez voisines. *Par ailleurs ils possèdent tous deux l'acido-résistance. C'est au résidu insaponifiable et à ses éthers que l'on doit, semble-t-il, imputer l'acido-résistance du bacille de* Koch.

Contrairement à GORIS, R. J. ANDERSON a décelé une assez grande quantité de polysaccharides.

Quant à la cholestérine, ni GORIS ni ANDERSON n'en ont trouvée.

En résumé les recherches de R. J. ANDERSON, de GORIS et de leurs prédécesseurs ont établi que les dissolvants des cires et des graisses du bacille de KOCH, autrement dit des lipoïdes bacillaires, extrayaient des bacilles des acides gras, dont certains sont doués de propriétés particulières, un résidu saponifiable, et surtout des éthers complexes de cet insaponifiable, des composés phosphorés. Nous avons montré par les tableaux 6 et 10 les substances susceptibles d'être extraites par les différents solvants. Toutes ces données vont nous être du plus grand secours lorsque nous allons étudier l'action physiologique des divers extraits et des composants qui en ont été isolés, et des antigènes divers qui ont été préparés à partir du B. K. ; elles contribueront en effet à préciser nos idées sur le rapport existant entre la composition chimique des fractions du bacille de KOCH et leur action physiopathologique.

Il nous faut maintenant entreprendre l'étude d'une fraction extrêmement importante du bacille de KOCH, celle qui contient les éléments mêmes de son protoplasme, à savoir sa fraction protéique.

CHAPITRE IV

LES CONSTITUANTS PROTÉIQUES DU BACILLE DE KOCH

On se rappelle que R. J. Anderson a isolé une fraction A_{10}, insoluble dans l'alcool-éther et dans le chloroforme, qui contient les protéines du B. K. Il n'a pas étudié cette fraction. Mais nous verrons plus loin qu'à partir du résidu insoluble dans l'alcool-éther de R. J. Anderson, T. B. Johnson et Renfrew ont préparé une protéine (voir tableau 7, p. 37).

Nous même répétant la technique de Goris, nous avons isolé deux fractions protéïques insolubles dans le chloroforme, l'une soluble dans l'eau et précipitable par l'alcool, l'autre soluble dans l'eau et non précipitable par l'alcool (voir tableau 1, p. 23).

La première fraction, qui est une nucléoprotéïde, a les propriétés, ainsi que nous l'avons dit, de la tuberculine brute sur lesquelles nous reviendrons.

De nombreux auteurs ont étudié les constituants protéiques du bacille tuberculeux.

Il est depuis longtemps connu que les nucléopro-

téïdes constituent une partie considérable des constituants cellulaires du bacille tuberculeux.

Rappelons rapidement d'après LAMBLING ce que l'on entend par nucléoprotéïde.

Les nucléoprotéïdes résultent de l'association d'une protéine avec un complexe phosphoré, la nucléine, mais comme cette dernière est décomposable aussi en une nucléine, et en un acide phosphoré, *l'acide nucléique*, c'est cet acide qui représente finalement le groupe prosthétique spécifique des nucléoprotéïdes.

Cet acide nucléique est lié dans les noyaux cellulaires des animaux supérieurs à des protéines véritables. Les nucléoprotéïdes sont solubles dans les alcalis étendus qu'elles neutralisent parfaitement. Ce sont donc des corps à fonction acide. Elles sont dédoublables par la pepsine chlorhydrique en une protéine qui est peptonisée et en un corps insoluble qui contient une plus grande proportion de phosphore que la nucléoprotéïde originelle, la nucléine.

Cette nucléine, plus acide que la nucléoprotéïde est dédoublée par les alcalis en une matière albuminoïde et en un acide nucléique, qui contient tout le phosphore du protéïde primitif.

Les acides nucléiques sont donc le fragment vraiment spécifique des nucléoprotéïdes. Ce sont des corps à la fois azotés et phosphorés renfermant 8 à 10 % de P, solubles dans les alcalis étendus qu'ils neutralisent parfaitement. Ce sont donc de véritables acides. Leur hydrolyse *in vitro* donne : 1° des bases puriques (ex. de bases puriques : l'adénine, la guanine, etc.) ; 2° des bases pyrimidiques ; 3° des corps appartenant au groupe des hydrates de carbone ; 4° de l'acide phosphorique (LAMBLING).

Bien que l'existence des nucléoprotéïdes bacillaires ait été antérieurement admise, ce ne fut qu'en 1898 qu'un essai fut fait d'extraire un acide nucléique de

cet organisme. Cette tentative fut faite par Ruppel (31) qui soumit de grandes quantités de bacilles broyés à l'extraction aqueuse et au traitement par l'acide acétique. Il réussit à caractériser deux substances chimiques ; l'une est précipitée par l'acide acétique : c'est une nucléoprotéïne qu'il a nommée tuberculosamine (32), l'autre n'est pas précipitée par l'acide acétique mais précipite de sa solution acide par l'acide chlorhydrique et l'alcool : c'est un produit contenant 9,42 de phosphore et possédant toutes les propriétés d'un *acide nucléique*. Ruppel a appelé ce produit caractéristique « Tuberculinsaüre », et l'a décrit comme étant une substance possédant des propriétés toxiques et immunisantes ; ce produit possède des propriétés semblables à celles d'autres acides nucléiques et il a une haute teneur en phosphore. Ruppel cependant n'a pu apporter aucune autre caractéristique permettant de préciser son identité.

Les recherches de Ruppel furent suivies par le travail de Levene (33) qui réussit à extraire des bacilles tuberculeux dégraissés et broyés avec une solution aqueuse à 5 % de chlorure de sodium ou de chlorure

(31) Ruppel W. G., *Zeitschrift für physiol. Chem.*, 1898-1899, t. XXVI, p. 218.

(32) Il est à noter que dans le filtrat d'une solution aqueuse de bacilles épuisés par l'alcool-éther, puis traités par une solution d'acide sulfurique à 5 %, Sakae Tamura a caractérisé l'adénine et probablement l'hypoxanthine, mais qu'il n'a pu retrouver la tuberculosamine de Ruppel. Dans le précipité il a identifié l'arginine, l'histidine, la lysine, la phénylalanine, la proline, la valine, la tyrosine, le tryptophane (*Zeitsch. f. Phys.*, vol. LXXXVII, 1913, p. 85).

(33) Levene P. A., *J. Med. Research*, 1901, t. VI, p. 135 ; *J. Med. Research*, 1904, t. XII, p. 251.

d'ammonium à 8 %, une petite quantité d'une substance contenant du phosphore et possédant les propriétés d'un acide nucléique; ce produit n'a jamais été obtenu à l'état pur, mais le fait qu'il contenait du phosphore, et qu'il donnait par hydrolyse les deux purines caractéristiques, la guanine et l'adénine a bien montré qu'il s'agissait d'un acide nucléïque. Levene n'a pas seulement isolé l'acide nucléique libre du bacille tuberculeux par extraction par les solutions salines ci-dessus mentionnées, mais il a aussi soumis les résidus bacillaires à l'hydrolyse avec une solution de soude à 5 %, et il a réussi de cette manière à libérer l'acide nucléique combiné des constituants nucléoprotéidiques de la cellule. Cet acide a été séparé et soumis à l'hydrolyse acide ce qui permit à Levene d'obtenir les deux purines, guanine et adénine. Il fut impossible à cet auteur d'établir d'après les résultats de ses analyses, si cet acide était identique à l'acide nucléïque du thymus.

En dehors de ces deux chercheurs, la plupart des auteurs jusqu'aux travaux récents de E. Long, de T. B. Johnson et E. B. Brown n'ont pas apparemment réussi à isoler du bacille tuberculeux aucun produit présentant les propriétés caractéristiques de l'acide nucléïque, à l'exception cependant du chercheur japonais Kitajima (34). Ce dernier a réussi à séparer de l'organisme bacillaire par un procédé particulier d'extraction un constituant toxique auquel il donna le nom de « tuberkelothymine-saüre ». Quoique la composition de cet acide n'ait pas été déterminée, Kita-

(34) Kitajima T., *Mit. Med. Ges. Tokio*, 1902, t. XVI, p. 17.

JIMA dit dans son travail que la substance se comporte de toute manière comme un acide nucléique du thymus, et fournit de la thymine, ou un corps semblable par hydrolyse.

La plupart des auteurs ont jusqu'à E. LONG et jusqu'à T. B. JOHNSON et E. B. BROWN étudié les protéines des bacilles dégraissés, mais n'ont pas poussé très loin l'analyse chimique de cette fraction. Nous avons vu plus haut par quelle technique AUCLAIR et PARIS (35) avaient pu iscler la substance qu'ils nomment *bacillo-caséine* à laquelle ils ont attribué des propriétés biologiques particulières sur lesquelles nous reviendrons. E. LONG (36) a récemment étudié les bases puriques trouvées après hydrolyse des nucléoprotéïdes bacillaires : il n'a pas pu mettre en évidence la xanthine et l'hypoxanthine mais il a trouvé 0,21 % de guanine, et 0,20 % d'adénine dans les bacilles humains cultivés sur bouillon glycériné. Pour les mêmes germes cultivés dans les milieux synthétiques à base de chlorhydrate d'ammoniaque, glycérine, phosphate de sodium et de potassium, chlorure de sodium et sulfate de magnésium, la proportion des bases puriques s'élève à 0,39 % et 0,30 %, ce qui correspond dans les deux cas à 2 % et 3,5 % d'acide nucéique.

HANS POPPER et J. WARKANY (37), se fondant sur la teneur des protéines du bacille tuberculeux en tryptophane 1,1 % et en tyrosine 1,4 %, chiffres indiqués

(35) AUCLAIR et PARIS, *Archives de Med. expérim. et d'anat. Path.*, t. XX, p. 737-752, 1908 (Voir page 16 et suivantes).
(36) E. LONG, *Amer. Rev. of Tuberc.*, 1921, t. IV p. 842.
(37) *Zeitsch. f. Tuber*, 1925, t. XLII, p. 368.

par FURTH et FISCHER, font observer qu'elles ne diffèrent pas sensiblement des autres protéines végétales et animales. Par contre E. LONG estime que l'acide nucléique bacillaire se rapproche davantage, par sa composition, des acides nucléiques d'origine animale.

Les résultats obtenus par LONG quoique aboutissant à des chiffres plus bas que ceux auxquels on aurait pu s'attendre, représentent la meilleure estimation du contenu actuel du bacille de KOCH en acide nucléique qui a été faite avant les travaux de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN.

TECHNIQUE D'EXTRACTION DE T. B. JOHNSON ET E. B. BROWN (38)

T. B. JOHNSON et E. B. BROWN (38) ont opéré sur des bacilles humains ayant été fournis par les compagnies Parke Davis and C° d'une part, et Mulford d'autre part. Les bacilles avaient vraisemblablement poussé sur milieu glycériné. La technique de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN rappelle par certains côtés celle adoptée par AUCLAIR et PARIS pour la préparation de la bacillocaséine. Mais ces derniers auteurs faisaient agir des réactifs plus brutalement et n'ont pas par

(38) A) T. B. JOHNSON et E. B. BROWN :
a) Nucleic acid from the nucleoprotein of tubercle bacilli (Tuberculinic acid). (*J. Biol. chem.*, 1922, t. LIV, p. 721-731).
b) The pyrimidines contained in tuberculinic acid. The nucleic acid of tubercle bacilli. (*J. Biol. Chem.*, 1922 , t. LIV, p. 731-737).
B) E. B. BROWN et T. B. JOHNSON, *J. Biol. chem.*, 1923, t. LVII, p. 199.

ailleurs poussé aussi loin que JOHSON et BROWN l'analyse et le fractionnement chimiques de leur produit.

La tecbnique de JOHNSON et BROWN était la suivante :

Les bacilles préalablement lavés et desséchés par les deux firmes qui les avaient fournis furent à nouveau broyés et desséchés dans le vide sulfurique puis *dégraissés par le toluène anhydre.*

Les bacilles soigneusement dégraissés furent hydrolysés par un premier traitement d'une heure par une solution aqueuse de soude à 3 %, puis par un second traitement par une solution de soude à 5 %. T. B. JOHNSON opéra comme suit : 100 grammes de bacilles secs dégraissés furent triturés dans un grand mortier avec 1.600 cc. d'eau. Une solution de soude contenant 60 grammes de NaOH dans 400 cc. d'eau fut alors ajoutée, et les bacilles furent complètement broyés et pulvérisés en suspension pendant une heure. Ce broyage est absolument nécessaire afin de rompre les cellules et d'assurer une bonne pénétration de l'alcali dans le milieu cellulaire. Après une heure, la solution fut rendue nettement acide par l'acide acétique, en prenant soin d'agiter continuellement et vigoureusement l'émulsion bactérienne pendant l'addition d'acide. En même temps on maintint la température du mélange au-dessous de 20°. Après l'acidification, on laissa reposer le mélange une nuit et on filtra. Le filtrat fut soigneusement recueilli.

Le résidu fut soigneusement lavé avec de l'eau contenant environ 2 % d'acide acétique, et le filtrat fut également recueilli.

Le résidu des bacilles fut soumis à un second traitement par 1.000 cc. d'une solution de soude à 5 %, en triturant à nouveau le mélange pendant 2 heures. On ajouta alors de l'acide acétique et le filtrat fut recueilli.

Sur 100 grammes de bacilles secs et dégraissés traités, il resta 84 grammes de substances insolubles ce qui indique que 16 % des bacilles originels furent extraits par l'alcali. Le résidu contenait 1,19 % de P^2O^5 tandis que la nucléoprotéine originelle employée pour l'hydrolyse contenait 2,19 % de P^2O^5. Donc seulement 45,66 % du phosphore furent enlevés par l'alcali. Mais comme le résidu insoluble n'a pas donné par hydrolyse les réactions nettes des bases pyrimidiques (39), on en peut conclure que l'extraction de l'acide nucléique a été complète, et que le phosphore présent dans le résidu (54, 34 %) *existe sous forme d'autres combinaisons que l'acide nucléique.*

Le filtrat acétique obtenu après l'hydrolyse de la nucléoprotéine avec une solution d'alcali à 3 % fut dilué avec de l'acide chlorydrique concentré jusqu'à ce qu'un léger précipité fut produit. Un égal volume d'alcool à 95 % fut alors ajouté à la solution, en prenant soin de maintenir le mélange froid pendant l'opération. On laissa alors reposer pendant quelques heures, durant lesquelles l'acide nucléique déposa sous forme d'un précipité amorphe dans le fond du flacon. Le liquide clair surnageant fut alors facilement enlevé par décantation, et l'acide nucléique séparé par centrifugation. Ce produit fut alors plusieurs fois mélangé, avec

(39) Exemple de bases pyrimidiques : la thymine, la cytosine, l'uracile.

50 % d'alcool à 80°, 95°, et alcool absolu. On centrifugea après chaque traitement et l'alcool fut séparé. L'acide fut ensuite lavé à l'éther et finalement séché dans le vide sulfurique.

Cet acide a été appelé *acide tuberculinique*. Il ne donne pas la réaction du biuret.

Cet acide par hydrolyse acide (traitement par l'acide sulfurique) a donné des pyrimidines parmi lesquelles on a identifié la cytosine et la thymine. L'uracile n'a pas été trouvé.

Par ailleurs T. B. Johnson et E. B. Brown ont analysé le résidu protéique par la méthode de Van Slyke, après extraction de l'acide nucléique et ils ont mis en évidence la présence d'acides aminés tels que l'arginine, l'histidine, la lysine, la cystine, le tryptophane, confirmant ainsi les constatations de Goris.

L'analyse des substances protéiques du bacille de Koch révèle, fait intéressant, un rapport très étroit entre les protéines bacillaires et les protéines cellulaires isolées par Chibnall (40) des feuilles d'épinard et d'alfa.

Recherches de R. D. Coghill (41)

R. D. Cochill a également étudié la fraction protéique du bacille de Koch. Travaillant sur des bacilles ayant poussé sur un milieu synthétique, il a pu isoler après dégraissage du bacille à l'éther, une protéine

(40) Chibnall A. C. 1° *J. Biol. Chem.*, 1924, t. LXI, p. 303 ; 2° *J. Biol. Chem.*, 1924, t. LXII, p. 173-179 (cité par T. B. Johnson et R. D. Coghill).

(41) R. D. Coghill, *The albumin-globulin fraction of the tubercle bacillus* (*J. Biol. Chem.*, t. LXX, 1926, p. 439).

soluble dans l'eau. Il obtint cette protéine par centrifugation à grande vitesse après l'avoir précipitée de sa solution aqueuse par l'acide acétique. Cette protéine a été le moins possible altérée du fait des manipulations, car les bacilles *ne furent jamais chauffés, ne furent traités par aucun acide minéral ni par l'acide acétique en solution dépassant un taux de* 2 %. Les seuls réactifs qui furent employés furent l'acide acétique dilué, et les solvants inertes, éther, chloroforme, et toluène.

La protéine soluble dans l'eau a les propriétés d'une albumine. Elle donne à l'analyse une forte proportion d'acides amino-basiques.

Elle a une activité biologique très marquée.

Après l'extraction des constituants hydro-solubles des bacilles tuberculeux, n'ayant été soumis à aucun chauffage à l'autoclave, R. D. Coghill traita le résidu par une solution aqueuse faible de soude (0,5 %). Il put ainsi isoler une protéine soluble dans les alcalis, contenant 14,2 % d'azote et équivalant en poids à 20 % des bacilles desséchés. Cette protéine est différente chimiquement de la protéine hydro-soluble. Elle est moins basique. *Contrairement à la protéine hydro-soluble, elle est dépourvue de toute action tuberculinique* (42).

***

Par ailleurs, T. B. Johnson et R. D. Coghill (43) ont isolé des protéines du bacille de Koch des substances dont ils n'ont pas poussé aussi loin le fraction-

(42) R. D. Coghill, *The alkali-soluble protein of the tubercle bacillus.* (*J. Biol. Chem.*, t. LXX, 1926, p. 449).

(43) Johnson et R. D. Coghill, *Am. Rev. Tuberc.*, 1927, t. XV, p. 494.

nement que dans leur technique précédente : ils leur ont donné les numéros 304 et 903. Nous verrons dans la troisième partie de cet ouvrage, que certains auteurs américains ont dans certaines de leurs expériences employé ces protéines pour étudier les effets physiopathologiques des protéines bacillaires.

Les protéines 304 et 903 sont toutes deux des fractions protéiques extraites de bacilles tuberculeux, n'ayant pas été mis à l'autoclave mais ayant été dégraissés par un traitement à l'éther de deux semaines à la température ordinaire.

Les seules différences dans les techniques ont été les suivantes :

La protéine 304 fut précipitée à froid de l'extrait aqueux stérile par centrifugation de cet extrait par une centrifugeuse ordinaire à grande vitesse.

La protéine 903 d'autre part, fut précipitée d'un même extrait aqueux stérile, après que cet extrait ait été centrifugé deux fois par une supercentrifugeuse à très grande vitesse.

Les résultats obtenus par la détermination chimique de la teneur de ces produits en azote, ont montré que la protéine 903 était le produit le plus pur.

Protéine 304 : teneur en azote	14,40 %
Protéine 903 : teneur en azote	15,50 %

La protéine 903 contient probablement une plus forte concentration en protéine pure que la protéine 304. Aussi est il très probable qu'étant donnée sa plus grande pureté, la protéine 903 est légèrement plus soluble. Etant donné leur mode de préparation, il est

vraisemblable que ces fractions ont en dehors des constituants protéiques des constituants lipoïdo-graisseux. Leurs constituants protéiques contiennent aussi certainement l'acide tuberculinique de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN.

D'autre part, T. B. JOHNSON et A. G. RENFREW (44) ont préparé à partir du résidu protéique obtenu après extraction des substances solubles dans l'alcool-éther par R. J. ANDERSON, une protéine 304 A. Cette protéine provenait de bacilles n'ayant pas été tués à l'autoclave (voir tableau 7, page 37).

Une protéine 304 B fut préparée par les mêmes auteurs de la même manière, mais les bacilles avaient été préalablement tués à l'autoclave.

Il nous faut synthétiser maintenant et comparer en un tableau les résultats obtenus par AUCLAIR et PARIS, GORIS, T. B. JOHNSON et E. B. BROWN, R. D. COCHILL, en ce qui concerne les fractions protéiques du bacille de KOCH, et tirer si possible de leurs diverses recherches des conclusions générales.

(Voir page suivante tableau 11.*)*

Il ressort immédiatement du tableau 11, que AUCLAIR et PARIS n'ont pas individualisé de produits nettement définis. Par leur technique de manipulation, se rapprochant dans une certaine mesure de celle de T. B. JOHNSON (voir pages 16 et suivantes) mais faisant agir les réactifs plus brutalement, ils ont dû assurément modifier la protéine bacillaire originelle. Néan-

(44) T. B. JOHNSON et A. G. RENFREW, *Am. Rev. Tuberc.*, 1928, t. XVII, p. 508.

TABLEAU 11. — *Substances extraites et individualisées de la fraction protéique et nucléoprotéique du bacille tuberculeux humain par les divers expérimentateurs.*

1° AUCLAIR et PARIS.

Protéines du B. K.
- *Poisons non adhérents* (exomicrobiens). — Solubles dans l'eau et dans solution de NaCl à 1 %. → *Albumoses*, *Albumines*, *Globulines* → Propriétés de la tuberculine de Koch (la tuberculine de Koch est un mélange de substances très complexes comprenant des éléments du milieu de culture).
- *Poisons adhérents*. — Extraits par l'acide acétique concentré chauffé à 80° et précipité par la soude, purifié par l'alcool. → *Bacillo-caséine* (nucléoprotéides). (Possède vraisemblablement aussi des propriétés tuberculiniques).

2° GORIS.

Protéïnes du B. K.
- Protéïnes alcoolo-solubles ??
- Fraction soluble dans l'eau, précipitée par l'Alcool à 95° de sa solution aqueuse = *Tuberculine brute*.
- Fraction soluble dans l'eau, non précipitée par l'Alcool : *Acides aminés*.

3° R. D. COGHILL.

Protéines du B. K.
- Fraction protéique soluble dans l'eau et dans une solution de NaCl à 3 %. → Précipite de sa solution aqueuse à froid par traitement par l'acide acétique dilué et centrifugation à grande vitesse. → Propriétés tuberculiniques.
- Fraction protéïque soluble dans les alcalis dilués. | Pas d'action tuberculinique.

4° T. B. JOHNSON et E. B. BROWN.

Protéines du B. K.
- Produit donné par hydrolyse protéique par la Soude. Soluble dans l'Acide acétique. Précipité par l'Alcool. → Acide nucléïque particulier. → Acide tuberculinique.
- Résidu. | Acides aminés. Pas de propriétés tuberculiniques.

5° T. B. JOHNSON, R. D. COGHILL, E. B. BROWN.

Protéines du B. K.
- Protéine 304.
- Protéine 903 (obtenu par un mode de préparation légèrement différent de celui de la protéine 304).

6° T. B. JOHNSON et A. G. RENFREW.

Fractions obtenues à partir du résidu bacillaire insoluble dans l'alcool-éther (Technique de R. J. ANDERSON, Voir Tableau 7 p. 37).
- Protéine 304 A (Bacilles non tués à l'autoclave).
- Protéine 304 B (Bacilles tués à l'autoclave).

moins il est vraisemblable que leur bacillo-caséine contient de l'acide nucléique plus ou moins modifié (*acide tuberculinique* de T. B. Johnson et E. B. Brown) et des acides aminés.

Goris n'a pas poussé très loin l'analyse des substances protéiques. Sa fraction soluble dans l'eau et précipitable par l'alcool comporte évidemment un acide nucléique voisin ou analogue à l'acide tuberculinique de T. B. Johnson et E. B. Brown.

La fraction hydro-soluble de R. D. Coghill comporte évidemment aussi cet acide.

L'individualisation de l'acide tuberculinique par T. B. Johnson et E. B. Brown constitue en somme le résultat *le plus notable* et le plus riche dans ses conséquences obtenu actuellement dans l'analyse des fractions protéiques du B. K. L'examen des propriétés biologiques des différentes fractions permettra de préciser des notions très importantes que nous avons dû jusqu'à présent laisser dans l'ombre.

Anticipant quelque peu sur les chapitres qui vont suivre, nous devons faire la remarque suivante : nous venons de voir que parmi les fractions protéiques isolées des corps bactériens, lavés et dégraissés, il en est qui sont douées des propriétés biologiques de ce que l'on appelle la tuberculine. Nous n'entrerons pas pour le moment dans le détail de ces propriétés que nous étudierons dans la troisième partie. Mais le fait que des constituants *endomicrobiens* du bacille de Koch sont doués de propriétés tuberculiniques, ne laisse pas d'être digne de la plus grande attention et nous amène à tenter de définir maintenant, *ce qu'on entend par tuberculine.*

CHAPITRE V

LA QUESTION DE LA TUBERCULINE

La plupart des biologistes et des cliniciens, qui expérimentent avec la tuberculine ancienne de Koch ne peuvent en aucune façon préciser les éléments qui la constituent. Nous avons dit au début de cette étude, qu'on pouvait englober sous le terme de tuberculine, des substances diffusibles en dehors du bacille dans le milieu de culture, solubles dans l'eau et dans les solutions chlorurées sodiques faibles, et possédant des propriétés biologiques spéciales. Ces propriétés sont en particulier d'être très toxiques à très petites doses pour l'animal tuberculeux, et inoffensives aux mêmes doses pour l'animal sain, de provoquer des cuti et intradermo réactions positives chez les individus tuberculisés et de conserver toutes ces propriétés après chauffage à 100°. En réalité le ou les principes actifs de ces substances dites tuberculiniques sont mal connus. Jusqu'à ces derniers temps et quelqu'étrange que cela puisse paraître, on n'avait pas nettement tranché la question de savoir s'il existait réellement une substance diffusible, *et sans doute possible* exomicrobienne,

capable de pouvoir provoquer des cuti et des intradermo-réactions positives chez l'animal et l'homme tuberculeux. La plupart des préparations dites tuberculines sont constituées le plus souvent en effet, par le milieu de culture sur lequel ont poussé les bacilles, milieu qui a été concentré, chauffé, plus ou moins grossièrement filtré pour séparer les corps bacillaires. L'on ne peut savoir, si le principe actif est un produit diffusible exomicrobien ou s'il provient de la désintégration des corps bacillaires qui aurait pu se produire au cours des manipulations, désintégration qui aurait entraîné la libération de produits endomicrobiens. Si l'on prend l'exemple de la tuberculine, communément employée, la tuberculine O. T., ou tuberculine ancienne de KOCH, on ignore si les produits qui en sont les éléments actifs et qui sont mélangés aux constituants du bouillon glycériné concentré, ont diffusé dans le bouillon lorsque les bacilles étaient vivants, ou s'ils ont été libérés des corps microbiens au cours de la préparation de la tuberculine. Cette tuberculine contient d'ailleurs, ainsi que A. SAENZE et F. VAN DEMSE (45) et bien d'autres l'ont remarqué, et nous même l'avons aussi souvent constaté, quand elle n'a pas été filtrée sur bougie L_2 ou L_3, d'assez nombreux corps bacillaires.

Par ailleurs, des auteurs antérieurs, en particulier le Pr BORREL le premier avec MANEA avaient bien montré que la tuberculine était ultra-filtrable, mais ils avaient opéré avec la tuberculine ancienne de

(45) A. SAENZE et F. VAN DEMSE, *Sur les lésions ganglionnaires produites chez le cobaye par la tuberculine brute.* (*C. R. Soc. Biol.*, 22 décembre 1928, t. XCIX, p. 1940-1942).

Koch pour laquelle il est vraisemblable que les principes actifs sont en partie des produits libérés des corps microbiens au cours de la préparation de la tuberculine. Nous avons donc voulu en collaboration avec R. F. Le Guyon établir sans discussion possible, l'existence d'une secrétion nettement exogène au corps bacillaire donnant des cutiréactions positives chez l'animal tuberculeux.

Ultrafiltration de la tuberculine (46)

(*Expériences personnelles.*)

(*en collaboration avec* R. F. Le Guyon)

Pour résoudre ce problème, nous avons fait des cultures en boîtes de Roux sur un milieu synthétique de choix, de *p*H 6,9 dont la formule a été précédemment établie par MM. Borrel, de Coulon, Boez et Quimaud (47), et à partir des bacilles bovins, souches Vallée, Behring et Strasbourg III. Les cultures ont été très abondantes ; elles donnent une tuberculine exempte de peptone. Le liquide de culture a été pré-

(46) R. F. Le Guyon et J. Albert-Weil. *Séparation par ultrafiltration de liquides de cultures en milieu synthétique du poison exogène du bacille tuberculeux, dit « Tuberculine »*. (C. R. *Soc. Biol.*, 20 septembre 1930, t. CIV, p. 1327).

(47) Borrel, de Coulon, Boez et Quimaud. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1922, t. LXXXVI, p. 388. Formule du milieu synthétique : sulfate acide de potassium 0 gr. 25, monophosphate de potassium 0 gr. 50, sulfate de magnésium 0 gr. 25, nitrate de sodium 1 gramme, carbonate d'ammonium 1 gramme, asparagine 4 gr. 50, glucose 5 grammes, mannite 5 grammes, glycérine 20 grammes, silicate de potassium 0 gr. 02. sulfate de fer 0 gr. 03, eau distillée 1.000 grammes.

levé avec des pipettes à boules et versé dans des ultrafiltres en collodion. Les sacs de collodion ont été préparés par le procédé interne déjà décrit antérieurement par R. F. Le Guyon (48). Le collodion répondait à la formule suivante : coton-poudre 40 grammes, alcool à 95° 460 cc., éther 500 cc. Les tubes-moules employés avaient 11 centimètres de long sur 25 millimètres de diamètre intérieur. Le temps de séchage des sacs était de 15 minutes. Les sacs secs avaient 1/100 de millimètre d'épaisseur.

Avec le liquide ultrafiltré nous avons pratiqué des cuti-réactions sur des cobayes tuberculeux de 30 jours, ayant reçu par voie sous-cutanée 1 cc. d'une émulsion de bacilles bovins, souche Vallée au titre de 1/100 de milligramme par centimètre cube. Dès les 12 à 24 premières heures qui suivent l'application du liquide ultrafiltré apparaissent des cuti-réactions, avec de larges infiltrations oedémateuses du trait de scarification. A l'heure actuelle les cuti-réactions sont les meilleurs procédés dont on dispose pour déceler la présence de ce que l'on appelle la « tuberculine ». Nos expériences prouvent nettement qu'il existe une substance *indiscutablement exomicrobienne, diffusible et ultrafiltrable*, donnant des cuti-réactions positives chez l'animal tuberculeux. La préparation de cette substance, que nous pouvons appeler tuberculine, à partir de cultures sur milieu synthétique simplement ultrafiltrées (et non à partir de cultures en bouillon glycérinées, chauffées, concentrées, puis filtrées) per-

(48) R.-F. Le Guyon, *C. R. de la Soc. de biol.*, 1930, t. CIII, p. 715.

met seule d'obtenir une « tuberculine » ne contenant que des poisons exogènes du bacille tuberculeux.

E. R. Long et F. B. Seibert prétendent que le principe actif de la tuberculine n'est pas dialysable (49). Mais la dialyse de même que l'ultrafiltration dépend de la nature de la membrane employée, et dans le cas du collodion dépend de nombreuses variables, en particulier de la formule de préparation du collodion, de son temps de séchage, etc. (voir R. F. Le Guyon : *Sur l'ultrafiltration du bactériophage*, (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. CIII, p. 715).

F. B. Seibert et M. T. Hanke (50) ont pratiqué l'électro-dialyse de la tuberculine ; ils ont montré que le principe actif de la tuberculine ne dialyse pas *à travers le parchemin* en quantité appréciable quand on pratique la dialyse simple, et non l'électro-dialyse. Il ne passe pas non plus par dialyse simple, à travers les membranes de collodion dans lesquelles l'éther et l'alcool absolu entrent en partie égale. Mais si on remplace l'alcool absolu par de l'alcool à 95° le principe actif de la tuberculine passe (vérification faite par cutiréaction sur le cobaye tuberculeux). Ces résultats sont en parfaite conformité avec ceux que nous avons nous-même obtenus.

***

Il ressort de tout ce qui précède qu'en somme le mot tuberculine désigne des produits éminemment com-

(49) E. R. Long et F. B. Seibert, *J. A. M. Ass.*, LXXXV, n° 9, p. 650, 29 août 1925.

(50) F. B. Seibert et M. T. Hanke, *Tuberculin electrodialysis* (*J. Biol. Chem.*, LXXVI, p. 535-541, février 1928).

plexes d'origines très diverses. Les tuberculines peuvent avoir selon leurs divers modes de préparation des propriétés diverses, et de plus, nous le verrons, et nous l'avons laissé entendre quand nous avons étudié les protéines bacillaires, la *faculté de donner des cuti-réactions positives n'est nullement l'apanage de substances exomicrobiennes*. On peut donc s'étonner qu'un auteur tel que M. Jousset (51), puisse prétendre « éliminer toute trace de tuberculine en lavant longuement des bacilles ayant poussés sur les milieux habituels et ayant été tués à basse température », *mais non dégraissés*. Nous avons vu que les manipulations chimiques complexes peuvent aisément modifier les propriétés des extraits bacillaires, et les faire nettement différer de celles d'autres extraits préparés différemment. Ce n'est pas parce qu'il y a, avec de nombreuses similitudes, quelques dissemblances légères entre les propriétés de la tuberculine ancienne de Koch, et celles du produit préparé à partir des B. K. par M. Jousset et appelé par lui *Allergine*, que cet auteur est en droit d'affirmer que des éléments entrant dans le principe actif de la tuberculine de Koch, complexe extrêmement mal défini, sont absents de sa préparation elle-même chimiquement très mal définie (52). Nous avons d'ailleurs vu,

(51) André Jousset, *Traitement de la tuberculose par l'Allergine* (*Presse Médicale*, n° 22, 16 mars 1929, p. 354).

(52) Voir Jean Albert-Weil, *Allergine et Tuberculine* (*Presse Médicale*, n° 40, 20 mai 1931, p. 739).

Nous montrons dans cet article que l'allergine de Jousset est douée de propriétés tuberculiniques, et qu'elle possède vraisemblablement tous les avantages et tous les inconvénients de la tuberculine de Koch. Que de plus son mode de préparation ressemble beaucoup à celui de la tuberculine résiduelle de Koch.

que Goris, T. B. Johnson et d'autres avaient isolé des corps bacillaires des substances endomicrobiennes douées nettement des propriétés de la tuberculine.

Il ressort donc de tout ce qui précède, que le mot tuberculine ne désigne qu'un ensemble de substances mal définies *douées des propriétés particulières* dont nous avons parlé plus haut, et sur lesquelles nous reviendrons.

***

Le nombre des préparations d'extraits de protéine du bacille de Koch intitulées tuberculine est très grand et parmi ces dites tuberculines il en est évidemment qui sont constituées d'extraits de protéines bacillaires possédant en dehors de leurs propriétés d'ordre proprement tuberculinique des propriétés qui ne rentrent pas dans cette catégorie, par exemple « toxicité pour l'animal sain ». Ces extraits protéiques sont appelés tuberculines du fait d'une mauvaise nomenclature, et par une extension malheureuse du terme, car s'il est vraisemblable qu'ils contiennent des éléments entrant dans la constitution de la tuberculine ancienne de Koch, il est évident qu'ils comportent par ailleurs des éléments n'entrant pas dans cette dernière tuberculine.

A dire vrai, on devrait plutôt que de tuberculines parler d'extraits possédant à des degrés plus ou moins grands, des propriétés dites tuberculiniques.

Ces propriétés sont dues à des constituants particuliers qui en sont les supports, qui sont donc les *principes actifs* ; tout l'intérêt réside donc dans l'extrac-

tion et l'individualisation de ces principes actifs. C'est à cette tâche que se sont employés de très nombreux auteurs.

***

Nous avons vu qu'on avait réussi à extraire *des corps bacillaires*, un acide nucléique (*acide tuberculinique* de T. B. Johnson et E. B. Brown) doué des propriétés tuberculiniques.

D'autres chercheurs n'ont travaillé que sur les préparations actuellement en usage, c'est-à-dire sur la tuberculine ancienne de Koch, ou sur des tuberculines préparées à peu près comme la tuberculine de Koch, mais à partir de cultures sur milieu synthétique.

Nous ne rappellerons pas ici le mode de préparation de la tuberculine ancienne de Koch, qui est donné dans tous les traités, non plus que nous ne décrirons les produits aussi nombreux que variés plus ou moins dérivés de cette tuberculine initiale, ou constitués par des extraits bacillaires complexes, nantis de noms les plus divers : Tuberculocidine de Klebs, Tuberculine de Maragliano, Oxytoxine de Hirschfelder, Tuberculol de Landmann, etc.. etc... Nous devons nous borner à renvoyer le lecteur que ces préparations intéresseraient à l'ouvrage classique du Pr Calmette : « Infection bacillaire chez l'homme et chez les animaux », où leur mode d'obtention et leur mode d'action sont excellemment exposés.

Les principes actifs de la tuberculine de Koch, et des tuberculines obtenues a partir de milieux synthétiques.

Les auteurs qui ont entrepris des recherches pour isoler le ou les substances actives de la tuberculine, ont travaillé en somme sur des milieux de culture bacillaire plus ou moins complexes ; il semble difficile *a priori* de concilier les résultats par eux obtenus avec les constatations faites par les chercheurs ayant travaillé sur les fractions protéiques des bacilles eux-mêmes. Cependant il n'apparaît pas de divergences profondes entre les résultats obtenus par les uns et par les autres. Nous ne rendrons compte que des principales recherches qui ont eu en vue la ou les déterminations des principes de la tuberculine (53). Nous ne citerons pour le moment que les travaux de E. R. Long et Florence B. Seibert (54) ; de Howard Mueller (55), et de Laidlaw et Dudley (56) (V. note page 73).

(53) Rappelons pour mémoire les travaux de Fernbach et Rullier (*C. R. Acad. des Sc.*, 7 janvier 1914). Pour ces auteurs la toxicité de la tuberculine, serait liée au radical acide des acides aminés qui la constituent. La libération de ces radicaux par la formol-réaction de Sorensen ne modifirait pas cette toxicité, mais celle-ci serait supprimée par la neutralisation des acides aminés.

(54) Long E. R. et Seibert F. B., *Am. Rev. Tuberc.*, 1926, t. XIII, p. 393-398-404-408-431-441-448. Seibert F. B. et Hanke M. T., *J. Biol. Chem.*, 1928, t. LXXVI, p. 535 ; Seibert F. B., *J. Biol. Chem.*, 1928, t. LXXVIII, p. 345 ; — *Amer. Rev. tuberc.*, 1928, t. XVII, p. 394.

(55) Mueller J. H., *A chemical study of the specific elements of tuberculin.*

a) *J. experimental medicine Baltimore*, 1926, t. XLIII, p. 1.

Du milieu synthétique de Long sur lequel avaient poussé des bacilles tuberculeux, Florence B. Seibert a isolé sous forme cristalline une protéine soluble dans l'eau. Sa structure chimique semble être analogue dans une certaine mesure, à celle de la protéine 304 extraite du bacille tuberculeux par T. B. Johnson, R. D. Coghill et E. B. Brown (elle doit contenir l'acide nucléique dit tuberculinique). Florence Seibert a montré que cette protéine est probablement le principe actif de la tuberculine. Elle tue les cobayes sensibilisés aux doses appropriées. Cette protéine bacillaire a une *labilité moléculaire très grande*, et elle peut facilement subir des changements, qui affectent sa solubilité et ses propriétés biologiques. Dans sa forme naturelle elle est soluble et cristallisable. Mais après une très légère manipulation, la solubilité originelle est changée à un tel point qu'au lieu de se dissoudre à *p*H 5,4 dans l'eau distillée, elle se dissout à *p*H 7,0. La protéine donnera toujours une cuti-réaction, mais elle ne cristallisera pas. Des manipulations ultérieures la rendent insoluble, excepté en milieu alcalin ; mais dans de telles conditions, elle perd ses propriétés biologiques.

***

Laidlaw et Dudley (56) d'une part, Howard Mueller d'autre part, ont soumis une grande quantité de produits tuberculeux (1 kilogramme de bacilles ou 1 litre

b) *The preparation of residue antigen from old tuberculin.* (*J. exp. med.*, t. XLIII, p. 9).

(56) Laidlaw P. et Dudley H. W., *British journal exper. path.*, 1925, t. VI, p. 197.

de tuberculine brute) à une série de longues et laborieuses manipulations chimiques qui les ont conduits aux résultats suivants :

Laidlaw et Dudley sont parvenus à isoler une substance spécifique sous forme d'une poudre blanche soluble dans l'eau. Les essais d'identification de ce produit leur ont permis de le considérer comme un complexe hydrocarboné du groupe des pentoses. A ce propos, nous devons faire remarquer que R. J. Anderson a réussi à isoler de corps bacillaires de B. K. ayant poussé sur milieu synthétique de Long, une fraction As constituée par un polysaccharide stable, soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool. Il serait intéressant de comparer les propriétés biologiques du produit de Laidlaw et Dudley, avec celles de la fraction As d'Anderson. La fraction As n'a pas été isolée des constituants supposés protéiques du B. K., mais a été plutôt entraînée avec les constituants adipo-cireux. Il est à noter d'autre part, qu'une préparation aussi complexe que la tuberculine de Koch, peut contenir de très nombreuses substances : corps microbiens, lipoïdes, protéines, etc. C'est la « bouteille à l'encre », pourrait-on dire. Qu'on y ait isolé un pentose, ne peut donc étonner. La substance de Laidlaw et Dudley, mise en contact avec un sérum précipitant de cheval donne une réaction de précipitation nette en dilution à 1/6.000.000. Mais elle ne donne pas d'intradermo réaction positive chez les cobayes tuberculeux. Elle est donc différente du principe actif de la tuberculine.

Travaux de H. Mueller

Howard Mueller a recherché si la fraction de la tuberculine responsable des réactions spécifiques chez le cobaye tuberculeux était ou non de nature protéique. Opérant d'abord avec de la tuberculine brute, il a pu constater que la réaction spécifique de précipitation (*en présence* d'un sérum précipitant) (57) et la réaction cutanée données par la tuberculine ancienne sont attribuables à deux substances distinctes présentes dans ce produit. Pour individualiser ces deux substances, H. Mueller a pratiqué des manipulations chimiques diverses, dans le détail desquelles nous ne voulons pas

(57) Il convient de faire ici une *remarque très importante* pour la compréhension des expériences de Laidlaw et Dudley d'une part, de H. Mueller d'autre part, et de souligner dès maintenant un fait dont nous verrons toute l'importance dans la deuxième partie : lorsque l'on parle de sérum précipitant la tuberculine, il ne s'agit pas de sérum obtenu par inoculation de tuberculine à l'animal. La tuberculine, que ce soit une tuberculine obtenue à partir d'un milieu synthétique ou la tuberculine ancienne de Koch, est un mauvais antigène, un antigène *incomplet*. Elle ne peut que très imparfaitement, lorsqu'elle est injectée à l'animal, faire naître vis-à-vis d'elle ou de ses composants des propriétés précipitantes dans le sérum de cet animal, propriétés qui seraient *décelables in vitro*. Pour créer des sérums précipitant la tuberculine, il faut, soit inoculer à l'animal des bacilles vivants, soit lui inoculer en série des bacilles morts. G. Dreyer et L. Wollum (*Lancet*, 15 novembre 1924, p. 1003), par exemple, se sont adressés pour l'obtention d'un sérum précipitant à des chevaux inoculés par voie intra-veineuse avec des doses progressivement croissantes, de bacilles dégraissés par l'acétone, puis formolés (vaccin diaplyte).

Calmette et de Potter ont préparé des sérums précipitant la tuberculine et donnant la réaction de fixation par inoculation en série par voie intra-veineuse à dose croissante de bacilles B. C. G. émulsionnés dans l'eau physiologique, formolée à 5 %.

entrer. Disons seulement qu'elles sont plus compliquées et moins rationnelles que celles qu'ont pratiqué T. B. Johnson et E. B. Brown pour isoler leur acide tuberculinique et leur résidu protéique. Il est vrai que ces derniers auteurs travaillaient sur des bacilles soigneusement dégraissés, tandis que H. Mueller avait comme matériel la tuberculine brute de Koch.

H. Mueller a vu par ailleurs que sous l'action des enzymes *protéolytiques* (tels que la pepsine ou la trypsine), la tuberculine ancienne perd graduellement la propriété de donner des réactions cutanées, tandis qu'au contraire persiste intégralement le pouvoir précipitant *en présence* d'un immun-sérum. *Ce fait prouve bien que les substances douées de propriétés tuberculiniques sont de nature protéique.*

D'autre part si une quantité donnée de tuberculine O. T. préparée de la manière habituelle avec un bouillon de culture de six semaines est précipitée avec 10 volumes d'alcool, et si le précipité est redissout et ensuite à nouveau précipité une ou deux fois de la même manière, on obtient une préparation donnant à la fois les deux types de réactions, cutanée et précipitante. Mais si à une *solution aqueuse* de cette tuberculine antérieurement précipitée par l'alcool, on ajoute assez d'acide acétique pour produire une précipitation maxima, le précipité donnera uniquement la réaction cutanée, tandis que le filtrat donnera les deux réactions cutanée et de précipitation. Si par contre, le précipité alcoolique de la tuberculine, ou une partie du filtrat, préparé comme il est dit ci-dessus, est précipité par l'acide tannique et filtré, le filtrat débarrassé de

l'extrait d'acide tannique donnera une forte réaction de précipitation et pas de réaction cutanée (H. MUELLER).

Utilisant ensuite la tuberculine préparée sur un milieu synthétique dont la formule est due à PÉTROFF (58), H. MUELLER est parvenu après de nombreuses précipitations alcoolique et acide (59), à isoler deux substances : la première correspond peut-être plus ou moins à la protéine hydro-soluble de R. D. COGHILL, qui précipite par l'acide acétique. *Elle contient vraisemblablement l'acide nucléique tuberculinique* de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN. Mais c'est un composé plus complexe que cet acide, car elle donne les réactions du biuret, et de MILLON.

L'autre que H. MUELLER appelle *antigène résiduel de la vieille* tuberculine contient 0,3 % d'azote et de légères traces de phosphore. On a pu aussi déceler dans les cendres une trace de cuivre. Bien qu'elle ne réduise pas la solution de BENEDICT, elle donne quelques réactions typiques des hydrates de carbone. Elle se rapproche donc de la substance hydrocarbonée de LAIDLAW et DUDLEY. Elle est soluble dans les alcalis dilués.

En solution aqueuse elle ne donne pas de précipité

(58) Formule : KH^2PO^4 ..... 5 gr.
$MgSO^4$ ..... 0 gr. 6
Citrate de Mg ..... 2 gr. 6
Aspara /gine ..... 5 gr.
Glycérine ..... 20 cc.
Eau ..... 1000 cc.
ajuster au *p*H 7 avec NaOH

(59) Pour le détail de ces opérations voir J. H. MUELLER J. *Experim. Med. Baltimore*, 1926, t. XLIII, p. 1-12

avec l'acide picrique, l'acide tannique, ou l'acide phosphotungstique, non plus qu'avec l'acétate de plomb neutre ou basique.

La première substance de MUELLER donne des réactions cutanées positives chez le cobaye tuberculeux quand on emploie 0,1 cc. de sa solution aqueuse au 10/1.000, et ne donne qu'une très faible réaction de précipitation à une dilution de 1 %.

La deuxième substance est précipitable par le sérum spécifique en dilution à 1 pour 2/1.000.000. En dilution à 1/1.000, elle ne provoque pas la réaction cutanée. Elle possède aussi la propriété de fixer le complément.

***

Il ressort en somme de toutes les nombreuses recherches qui ont été faites tant sur la fraction protéique du B. K. que sur les produits appelés tuberculines *que deux fractions au moins peuvent être isolées, douées chacune de propriétés biologiques particulières.* H. MUELLER a donc raison de dire que la tuberculine ne peut être titrée par les réactions de précipitation ou de fixation du complément parce que dans ces méthodes interviennent des facteurs différents de ceux qui déterminent les réactions cutanées.

On remarquera l'étroite parenté tant chimique que biologique existant entre la fraction protéique du B. K. et les tuberculines (abstraction faite des éléments particuliers aux milieux de culture).

Nous avons démontré l'existence d'un produit indéniablement exomicrobien diffusant dans le milieu, DU

VIVANT MÊME DU BACILLE. Toutefois il est évident que ce produit existe aussi bien à l'intérieur du bacille puisque on a pu extraire des corps bacillaires des fractions douées de propriétés tuberculiniques. On ne peut donc véritablement distinguer en parlant des poisons du B. K. des poisons exomicrobiens et des poisons endomicrobiens. Il n'existe aucune cloison étanche entre ces deux sortes d'éléments. Peut-on parler cependant en ce qui concerne le produit exomicrobien qui diffuse dans le milieu de culture d'une secrétion du microbe ? Même pas. L'action de l'eau contenue dans le milieu sur le corps microbien peut expliquer la présence dans les milieux de substances hydrosolubles ayant diffusé. Certains auteurs considèrent cependant le produit exomicrobien doué de propriétés tuberculiniques comme un produit d'excrétion du microbe : la question de la nature physiologique des tuberculines demeure pendante.

***

L'étude des fractions isolées à partir du bacille de KOCH nous amène à envisager la question de l'action physiopathologique propre à chacune d'elles. L'étude de ce problème fera l'objet de la troisième partie de cet ouvrage. Disons dès maintenant qu'il est vraisemblable que des fractions plus ou moins analogues à celles qui ont été artificiellement isolées peuvent être libérées progressivement dans l'organisme au cours de processus métaboliques de digestion cellulaire des corps bacillaires, si cette digestion a lieu. *Notons à ce propos*

qu'il est tout à fait inexact de concevoir le B. K. comme entouré d'une enveloppe cireuse protégeant un contenu protéique : les constituants lipoïdes, protéiques et polysaccharidiques sont étroitement unis *et même combinés en divers complexes* et les actions biologiques des lipoïdes, des protéines et des polysaccharides bacillaires s'exercent *en étroite corrélation les unes avec les autres.*

***

Avant d'aborder l'étude des actions biologiques des fractions isolées du bacille de Koch, nous estimons nécessaire d'exposer les conceptions actuelles concernant les substances antigènes et de donner un aperçu général des réactions cellulaires qui s'observent dans l'infection tuberculeuse tant spontanée qu'expérimentale. Il serait en effet absolument impossible, à défaut de ces notions, de donner leur signification et leur valeur aux diverses réactions cellulaires et humorales produites par les diverses fractions du bacille de Koch et par les bacilles eux-mêmes. L'étude de l'antigénie et des réactions cellulaires dans la tuberculose constitue le fil directeur qui relie les uns aux autres les faits observés et permet de leur donner toute leur portée.

Nous allons tout d'abord exposer la conception moderne des haptènes, dont l'idée originelle est due à Landsteiner (60). La notion d'haptènes, permet de

(60) Landsteiner, *Zeit. f. immunität*, t XX, 1913, p. 211 et 618 ; t. XXI, p. 193 ; t. XXVI, p. 136 ; — *Biochem. Zeitschr.*, t. LVIII, p. 362, etc, — *Proceedings Royal Academy of Sciences, Amsterdam*, t. XXV, n° 1, p. 34.

comprendre les travaux de ZINSSER (61), et de H. MUELLER qui ont appliqué les théories de LANDSTEINER aux antigènes tuberculeux, et de donner leur valeur aux travaux antérieurs de MUCH (62).

(61) H. ZINSSER : 1) *Infection and Resistance*, 3e édition, p. 108 et suiv. The Macmillan Company, New York, éditeurs.
2) *J. Exper. Med.*, 1921, t. XXXIV, p. 494 et suivantes.
3) En collaboration avec Julia T. PARKER, *J. Exper. Med.*, 1923, p. 275 et suivantes.

(62) H. MUCH, *Deutsch. Mediz. Wochenschr*, 1920, p. 845.
Cet auteur a isolé du bacille de KOCH diverses fractions, qu'il considère comme des fractions de l'antigène global et qui sont douées de propriétés antigéniques incomplètes, ainsi que nous le verrons plus loin. MUCH les a appelé antigènes partiels ou partigènes.

DEUXIÈME PARTIE

LES CONCEPTIONS MODERNES DES SUBSTANCES ANTIGÈNES ET LES RÉACTIONS CELLULAIRES DANS LA TUBERCULOSE

DEUXIÈME PARTIE

LES CONCEPTIONS MODERNES DES SUBSTANCES ANTIGÈNES, ET LES RÉACTIONS CELLULAIRES DANS LA TUBERCULOSE.

CHAPITRE PREMIER

LES CONCEPTIONS MODERNES DES SUBSTANCES ANTIGÈNES ET LES THÉORIES DE LANDSTEINER

Par définition un antigène est une substance qui, introduite dans les tissus ou la circulation d'un animal, fait apparaître tôt ou tard dans le sang des substances, qui réagissent spécifiquement avec lui, et que l'on appelle des anticorps spécifiques (H. Gideon Wells (63). Ces anticorps ne sont pas, remarquons-le, des substances

(63) Gideon Wells, *Les aspects chimiques de l'Immunité.* Traduction Boez, G. Doin, éditeur, p. 8. (Voir aussi : J. Albert-Weil, *Les données actuelles du problème de l'Immunité* (*Gazette des Hôpitaux*, 2 et 9 mars 1929) et B. le Bourdelles et P. Sedallian *Précis d'Immunologie*, G. Doin, éditeur, 1930, p. 110 et suivantes.

nettement définies et bien nettement isolées. Nous ne les connaissons que par les réactions auxquelles ils donnent lieu lorsqu'on les mélange à l'antigène correspondant. Ils n'existent peut-être pas en tant qu'entités et sont peut-être simplement des substances préexistantes ayant subi sous des influences données des modifications physiques. On distingue ces substances anticorps hypothétiques en agglutinines, précipitines, antitoxines, etc. La fonction des anticorps (par exemple dans le cas des antitoxines) présente *quelquefois* un caractère défensif. Mais très souvent, ils n'exercent aucune action protectrice. Ils n'apparaissent que comme les témoins de certains processus de digestion cellulaire, et *il semble qu'il en soit ainsi dans l'infection tuberculeuse* (CALMETTE).

Les recherches chimiques récentes ont montré que, pour qu'une substance agisse comme antigène, elle doit, semble-t-il, exister à l'état de solution colloïdale, être *étrangère* à l'animal producteur d'anticorps, et fait de la plus haute importance, pénétrer au delà des surfaces épithéliales, qui protègent l'organisme contre les colloïdes étrangers. Il est des substances antigènes, qui exercent une action toxique lorsqu'elles ont été injectées à un organisme animal. Tels sont les venins, certains poisons végétaux, certaines enzymes protéolytiques animales ou végétales, des toxines microbiennes. Un grand nombre d'autres antigènes n'exercent par eux-mêmes aucune action toxique ou diastasique.

La plupart des antigènes sont de nature protéique. Toutefois, il semble que certains lipoïdes puissent avoir une action antigénique.

La question des antigènes lipoïdiques

Le pouvoir antigénique des lipoïdes n'est évidemment pas hors de conteste. Il est à noter que les résultats ont été généralement négatifs, lorsqu'on a utilisé des phosphatides purifiées. Les résultats positifs au contraire ont été habituellement observés avec des lipoïdes de pureté plus ou moins douteuse. Le fait que des extraits de phosphatides du bacille de Koch, par exemple, tels que l'antigène méthylique de Boquet et Negre, aient sur l'animal des effets antigéniques ne peut constituer une preuve absolue du pouvoir antigénique des lipoïdes du bacille de Koch. Il est peut-être possible d'ailleurs par l'extraction méthylique d'extraire du bacille de Koch en même temps que des lipoïdes des fractions protéiques, et il se peut que dans le cas d'antigènes dit « lipoïdes » l'anticorps actif soit, comme l'a fait remarquer Landsteiner, une substance non lipoïde entraînée par les lipoïdes dans leurs dissolutions. Les lipoïdes possèdent en effet la curieuse propriété de modifier par leur présence la solubilité des autres protéines et d'autres substances. Mayer et Terroine ont montré, nous l'avons vu, que les phosphatides peuvent être étroitement associées aux protéïnes et former avec elles *des complexes solubles dans l'alcool*. De plus les recherches modernes ont aussi montré qu'il est possible que les lipoïdes confèrent aux protéines antigènes auxquelles ils sont unis et parfois même combinés une spécificité antigénique particulière (par exemple dans le cas du bacille de Koch, la pro-

priété de provoquer la formation, chez l'animal, de sérum présentant une réaction spécifique de précipitation *in vitro*, *en présence* de lipoïdes particuliers extraits du bacille de Koch).

A titre d'autres exemples, les antigènes hétérogénétiques décrits par Forsman (64) sont à ce point de vue du plus grand intérêt. Ces antigènes, bien que présents dans les tissus animaux les plus variés, sont cependant capables de provoquer la formation d'anticorps hémolytiques pour les hématies du mouton. L'agent antigénique hétérogénique est soluble dans l'alcool ainsi que l'ont confirmé récemment Landsteiner et Sims (65). Landsteiner suppose que cet antigène hétérogène comprend deux éléments : l'un constitué par une protéine représente le facteur antigénique réel, nécessaire à la production des anticorps ; l'autre soluble dans l'alcool et vraisemblablement de nature colloïdale n'a pas de pouvoir antigénique par lui-même, mais confère aux protéines antigéniques, en s'unissant avec elles, une spécificité hétérogénique particulière. Les expériences de Landsteiner et Sims sont en faveur de cette hypothèse. Ces auteurs trouvèrent en effet que l'élément lipoïdique isolé de l'antigène hétérogène, virtuellement non antigénique par lui-même, produit un antigène hétérogène actif s'il est simplement mélangé au sérum normal. Landsteiner a dénommé « haptènes » ces substances qui sont comme ces lipoïdes dépourvues du pouvoir de provoquer par eux-mêmes la formation

(64) *Biochem. Zeitschr.* t. XXXVII, p. 78, 1911 ; *Svenska läkaresällskapets handlingar*, Stockholm, t. LV, p. 65, 1929.
(65) *Journ. Exp. Med.* t. XXXVIII, p. 127, 1923.

d'anticorps, mais qui agissent néanmoins spécifiquement sur les anticorps (Gideon Wells). Nous verrons plus loin, lorsque nous préciserons le mécanisme de l'antigénie et que nous nous étendrons davantage sur la conception des « haptènes » que c'est là une notion très générale. Landsteiner a montré que le rôle d'haptènes peut être joué non seulement par certaines fractions lipoïdiques, mais encore et surtout par certains produits provenant du clivage des substances protéiques.

Par ailleurs, sans être antigènes par eux-mêmes, les lipoïdes pourraient peut-être accentuer l'action d'un antigène : Pick et Schwarz (*Bioch. Zeitschr.*, 1909) ont constaté que si on injecte à un animal du bacille typhique dans une suspension de lécithine à 1 %, on obtient avec plus de faibles doses une agglutinine plus énergique.

Les fonctions antigéniques. — Il découle des notions que nous venons déjà d'acquérir qu'on peut envisager dans les antigènes deux sortes de propriétés : d'une part celle de provoquer la formation d'anticorps, et de créer des réactions d'immunité, d'autre part celle *de récepteur de l'anticorps*. En effet l'étude d'un anticorps ne peut se faire qu'en étudiant la réaction qu'il réalise « *in vitro* » lorsqu'il est en contact avec l'antigène. Dans ce cas l'antigène fonctionne comme un réactif, il fixe l'anticorps qui lui est présenté, subit sous son influence une modification, agit en somme comme un récepteur dans une réaction spécifique. La substance capable de fonctionner comme antigène provocateur est aussi capable de fonctionner spécifiquement comme

antigène récepteur, c'est-à-dire de s'unir avec l'anticorps auquel elle a donné naissance. Mais l'inverse n'est pas exact, et on connaît aujourd'hui des substances capables de fonctionner comme des récepteurs et de donner des réactions avec l'anticorps, sans être cependant susceptibles de donner naissance à ceux-ci par inoculation à l'animal. *En un mot, des antigènes récepteurs ne sont pas toujours des antigènes provocateurs* (66) (Le Bourdelles et Sedallian). C'est là une notion capitale, qui comporte, nous le verrons, d'importantes applications. Par ailleurs, il est évident que plus une substance est formée de composants complexes, plus elle est susceptible de posséder selon la nature de ses divers constituants des propriétés antigéniques variées. Il existe pour un produit donné une véritable « *constitution antigène* », aussi délicate que la constitution chimique d'une substance organique, car un antigène se révèle même s'il est injecté

(66) Un exemple des plus nets d'antigènes récepteurs est le suivant : Forssman immunise des animaux avec des tissus broyés et obtient des sérums doués de la propriété de précipiter la suspension des lipoïdes, obtenue par l'extraction alcoolique de l'organe en question, qui n'aurait pas par elle-même le pouvoir de provoquer la formation d'anticorps précipitants. Cette suspension lipoïdique constitue donc un antigène récepteur.

Notons par ailleurs que Forsmann obtient par immunisation avec ses antigènes (extraits tissulaires) (*Antigènes hétérogénétiques*) la formation d'anticorps réagissant avec des protéines différentes des protéines antigènes provocatrices (par exemple : production chez le lapin après inoculation d'émulsion de poumon de cobaye d'hémolysines pour les érythrocytes de mouton).

Comme autres exemples d'antigènes récepteurs, nous devons citer les haptènes dérivés des protéines dont nous parlerons plus loin.

J. Forsmann, *Biochem. Zeit.*, t. XXXVII, 1911, p. 78.

J. Forsmann, *Antigènes hétérogénétiques et anticorps. Svenska läkaresällskapets handlingar, Stockholm*, t. LV, p. 65-71, 1929.

à doses faibles à l'animal, et l'anticorps qui lui correspond manifeste à son égard une telle électivité que l'étude des complexes antigènes-anticorps permet une analyse fort instructive. *Les corps microbiens par exemple représentent des antigènes fort complexes.* Les anticorps créés par eux peuvent se révèler par des réactions multiples (floculation, lyse, etc.). Il existe suivant l'expression de M. Nicolle, une « constitution en mosaïque des bactéries ».

On conçoit que des substances extraites des corps bacillaires, tels par exemple les partigènes de Much (67), puissent avoir des effets imparfaits et incomplets. Mais il y a plus, et c'est ici qu'il nous faut citer les magnifiques travaux qu'a poursuivis depuis 1913, Landsteiner avec de nombreux collaborateurs.

De nombreux auteurs, avant ou en même temps que Landsteiner, en particulier des auteurs allemands et américains, ont étudié l'effet du clivage des protéines sur les propriétés antigéniques, et recherché l'existence de ces propriétés dans les produits nés de ce clivage.

Obermeyer et Pick (68), qui sont parmi les premiers à avoir fait subir des altérations à des protéines par des méthodes chimiques variées, ont distingué deux sortes de méthodes pouvant être employées en vue de ces altérations. D'une part celles qui changent simplement la constitution physique, d'autre part, celles qui exercent une action directe sur la structure chimique des protéines. *La chaleur, l'action du toluène,*

(67) *Deutsch. Medizin. Wochenschr.*, 29 juillet 1920, p. 845.
(68) Pick, *Biochemie der antigene*, Iena, Fischer, 1912.

du chloroforme, des acides simples, des alcalis produisent des modifications des propriétés antigéniques, mais n'altèrent pas la spécificité d'espèce. Au contraire, quand on introduit des groupements NO^2 par le traitement par l'acide nitrique, ou si on fait une diazotation (69) de la protéine avec de l'acide nitreux, ou si on introduit de l'iode par le traitement par la solution de Lugol, on trouve que la spécificité des propriétés antigéniques de la protéine est altérée. Par exemple un immun-sérum produit par le traitement d'animaux avec quelqu'une de ces protéines modifiées ne réagit plus avec le sérum de cheval originel d'où cette protéine provient, mais réagit fortement et semblablement avec des protéines modifiées d'autres espèces. On pourrait donc concevoir d'après ces faits que la spécificité d'espèce est peut-être liée à une spécificité de la structure chimique. Dès que dans des réactions un changement produit est dû à quelque substitution de certains noyaux amino-acides des protéines, on doit penser qu'un tel changement est d'une importance capitale en ce qui concerne les fonctions antigéniques. Par exemple Gideon Wells pense que le manque des propriétés antigéniques de la

(69) On entend en chimie organique par diazotation l'introduction dans un composé organique de deux atômes d'Azote réunis par une double liaison. Pratiquement on peut faire une diazotation en traitant le composé organique à diazoter par du nitrite de sodium et de l'acide chlorhydrique, ce qui revient à introduire, de l'acide nitreux.

Exemple de diazotation :

$$\underset{\text{Aniline}}{C^6H^5NH^2} + \underset{\text{Acide nitreux}}{NOOH} + HCl = \underset{\text{Chlorure de diazobenzène}}{C^6H^5N = N \cdot Cl} + 2H^2O$$

gélatine est dû à ce que cette substance ne comporte pas de noyaux amino-acides aromatiques.

Les travaux de Landsteiner (70)

Landsteiner et ses collaborateurs ont particulièrement étudié les modifications des propriétés antigéniques des protéines en fonction des modifications de leur structure chimique. Nous ne pouvons, bien entendu entrer dans le détail des nombreuses expériences qu'il a pratiquées ; nous devons nous borner à donner ici les conclusions auxquelles est arrivé Landsteiner.

« La spécificité des antigènes est apparemment déterminée par la structure chimique de parties relativement petites de la grosse molécule antigène. » Par exemple, par diazotation des protéines, Landsteiner a créé des corps diazoïques qui n'intéressent que les groupements tyrosine et histidine de la protéine, groupements qui ne constitueraient qu'environ 3% des protéines utilisées. Dans le cours de son travail, Landsteiner fit un grand nombre de réactions avec 23 antisérums différents produits avec 33 diazoprotéines différentes. Six de ces immuns-sérums furent reconnus entièrement spécifiques et réagirent seulement avec l'antigène homologue et réciproquement. Parmi les antigènes, 15 seulement réagirent avec quelques-uns des anti-sérums, 9 de ces 15 antigènes n'étaient pas homologues c'est-à-dire ne correspon-

(70) Pour le détail des opérations chimiques pratiquées par Landsteiner, voir : *Biochemische Zeitschrift*, 1918, p. 243 et suiv.

daient pas aux antigènes utilisés pour la préparation des antisérums avec lesquels ils réagissaient. Il se produisait des *réactions de groupe*. L'observation d'Obermeyer et Pick que la spécificité d'espèce était entièrement modifiée et qu'il lui était substitué une spécificité chimique fut définitivement confirmée. En effet des réactions croisées n'ont été obtenues qu'avec des antisérums contenant des groupes aromatiques étroitement apparentés. L'immunsérum réagit toujours avec son antigène homologue, mais quelques sérums réagissent aussi avec les antigènes qui contiennent des chaînes aromatiques latérales isomères ou chimiquement très voisines des chaînes latérales aromatiques de l'antigène homologue. Le facteur important paraît être la position relative de l'acide et du groupe diazo dans le noyau aromatique. Les réactions croisées sont obtenues lorsque ces groupes occupent une position identique indépendamment des autres constituants du noyau, ou lorsque les groupes sont en position meta et ortho l'un par rapport à l'autre. Par exemple, les antigènes préparés avec les dérivés diazotés des corps suivants : acide *o*-aminobenzènesulfonique, acide *p*-toludinesulfonique, acide *p*-chlor, *o*-aminobenzènesulfonique et *m*-aminobenzènesulfonique réagissent avec l'antisérum acide diazo-*p* toludinesulfonique. Toutefois les réactions les plus accusées furent obtenues avec l'antigène homologue. Dans les trois premiers antigènes, le groupe acide sulfonique occupe la position ortho par rapport au groupe diazo. Dans le dernier antigène, le groupe acide sulfonique est en position méta par rapport au même groupe.

Puisque des différences chimiques aussi légères peuvent entraîner des déterminations particulières de propriétés antigéniques, il n'est pas impossible de penser que les différences dans la spécificité d'espèce de protéines animales peuvent dépendre uniquement de variations structurales dans les groupements aminés aromatiques, variations qu'il serait actuellement presque impossible de définir chimiquement avec exactitude, étant donnée l'isomérie des protéines.

Quoi qu'il en soit, les recherches de LANDSTEINER et de ses prédécesseurs font facilement comprendre qu'un sérum, ou une protéine de quelque nature que ce soit, sont des complexes d'un certain nombre d'antigènes différents, et ayant chacun une spécificité distincte. Mais en dehors de composants possédant *toutes* les propriétés d'un antigène, ces protéines peuvent comporter aussi des substances qui peuvent assurément réagir avec des anticorps, *mais avec lesquelles la formation d'anticorps par injection à l'animal n'a pas encore été démontrée*, des substances qui correspondent à ces antigènes purement récepteurs dont nous avons parlés plus haut. Il y a quelques années, LANDSTEINER a émis l'hypothèse que *la tuberculine pouvait être une telle substance* (71). Il se basait surtout sur le fait que, dans le cas de ce produit, *si des réactions spécifiques peuvent assurément être obtenues avec la tuberculine*

(71) Il a même été possible d'individualiser dans la tuberculine au moins deux antigènes récepteurs : on pourrait en effet considérer comme telles les deux substances isolées par HOWARD MUELLER a partir de la tuberculine : l'une donnant des cutiréactions chez les individus tuberculeux, l'autre donnant une réaction de précipitation *en présence* d'un sérum précipitant.

chez l'animal préalablement inoculé avec des bacilles de Koch, *la production d'anticorps par inoculation de tuberculine à l'animal sain n'a jamais été réussie d'une manière satisfaisante.*

Les récentes recherches de Zinsser ont apporté un grand appui à l'hypothèse de Landsteiner, et *lui ont même donné une portée générale.* Zinsser (72) se basant sur ses recherches personnelles, et sur celles de Avery et Heidelberger (73) a montré que, selon la forme sous laquelle l'antigène bactérien était injecté, et selon la fraction particulière de la bactérie entrant dans la constitution des extraits bactériens employés, il y avait des différences fondamentales dans la production des anticorps.

Avery et Heidelberger ont par exemple isolé du pneumocoque deux substances : Ils ont en effet traité par l'acide acétique dilué une solution de pneumocoques, et ils ont ainsi précipité une substance qui, bien qu'étant constituée par un mélange de protéines présente des caractères permettant de la considérer comme une nucléoprotéine bactérienne. L'autre constituant, qui n'a pas été précipité, n'a pas de caractère protéique. Elle a été appelée résidu, ou substance spécifique soluble ; cette substance est maintenant considérée comme un hydrate de carbone, du type polysaccharide.

(72) Zinsser, *Infection and Resistance*, 3e édition. The Macmillan Company éditeurs, New-York 1923.

(73) *a)* Oswald T. Avery et Morgan Hugh, *J. Experimental Medicine*, 1925, XLII, p. 347

b) Oswald T. Avery et Heidelberger (Michael) *J. Exper. Medicine.* 1925, XLII, p. 367, etc.

Si un lapin est immunisé avec un pneumocoque entier, les anticorps formés réagissent avec les bactéries entières, les agglutinant selon le mode habituel, et le même sérum précipitera aussi la fraction hydrocarbonée, ou résidu (substance soluble de AVERY et HEIDELBERGER). Puisqu'il est pratiquement impossible d'empêcher quelques pneumocoques de se dissoudre dans le milieu, un tel sérum réagira aussi avec la nucléoprotéine bactérienne. Mais si un lapin est immunisé soit avec des pneumocoques dissous dans la bile et filtrés, ou avec ladite « fraction nucléoprotéique du pneumocoque, « les anticorps formés réagiront avec une telle nucléoprotéine, mais très difficilement avec le résidu dont nous avons parlé plus haut. D'autre part, parmi ces anticorps formés, il n'y a que très peu ou même aucun des anticorps ordinaires qui agissent sur les cellules bactériennes entières. *L'immunisation avec la fraction résiduelle seule n'entraîne, cela va de soi, aucune formation d'anticorps.*

Ce résidu hydrocarboné des pneumocoques, s'il n'est pas antigène par lui-même donne vraisemblablement une spécificité antigénique particulière aux protéines du pneumocoque auxquelles il est uni. AVERY, HEIDELBERGER et GOEBEL ont montré en effet que la spécificité des 3 types de pneumocoques était due aux sucres complexes spécifiques de la capsule bactérienne. L'orientation de la protéine est fournie par le sucre. AVERY, HEIDELBERGER et GOEBEL ont montré en effet que lorsque des monosaccharides tels que le glucose, le galactose, sont transformés en glucosides et combinés à une protéine, les produits synthétiques

obtenus présentent des propriétés antigéniques spécifiques. Ainsi le sérum de lapin immunisé avec l'un ou l'autre de ces composés « sucro-protéïques » immunise soit contre des glucoglobulines, soit contre des galactoglobulines. *L'orientation de la protéïne est fournie par le sucre, quelle que soit la protéïne à laquelle il est attaché.*

De même, le sucre du type III du pneumocoque a pu être combiné à une protéine (globuline), et le composé s'est comporté exactement comme un antigène, antigène synthétique en ce sens qu'il produit des anticorps spécifiques chez le lapin. *Le sérum de lapin contenant ces anticorps agglutine les pneumocoques du type III et immunise les souris contre l'infection pneumococcique.* (Voir G. Loewy, *Quelques recherches récentes de laboratoire aux Etats-Unis* (*Presse Médicale*, 4 mars, 1931.)

Zinsser par ébullition avec un acide et extraction des fractions protéiques a pu, pour de nombreuses bactéries, bacilles tuberculeux, Pneumocoque, Staphylocoque, Méningocoque, Streptocoque etc., obtenir des substances qui restent dans les résidus après ces divers traitements. Ces substances sont précipitables par l'alcool, facilement solubles dans l'eau, et donnent à des taux extrêmement minimes des réactions puissantes avec des antisérums, donnant à la fois des réactions de précipitation, et fixant spécifiquement l'alexine. Mais quand ces substances sont suffisamment purifiées, *elles ne peuvent pas entraîner la formation d'anticorps par injection à l'animal.*

Les radicaux chimiques utilisés dans ces expériences sont incapables par eux-mêmes de provoquer la for-

mation d'anticorps, mais ils peuvent fixer les anticorps spécifiques, lorsqu'ils sont ajoutés aux antisérums engendrés par les protéïnes auxquelles ils ont été unis pour former les antigènes.

Il est vraisemblable que la fonction antigénique de l'union spécifique avec l'anticorps est sous la dépendance d'un noyau relativement petit de la molécule protéique, qu'il a été possible peut-être de diviser par les méthodes que ZINSSER a employées. *Le caractère de spécificité est déterminé par la structure chimique d'une partie relativement petite de la volumineuse molécule antigène.*

Les anticorps seraient formés chez l'animal seulement par suite de l'injection de substances *non diffusibles*, telles que les protéïnes véritables. Ces substances ayant une très grosse molécule et n'étant pas diffusibles, il ne pourrait s'établir entre elles et les cellules de l'organisme que des rapports cellulaires de surface. Les cellules des tissus pour réagir en présence de ces antigènes ne pourraient le faire que grâce à la formation d'anticorps.

Mais si la molécule des substances introduites était plus petite, la diffusibilité intracellulaire deviendrait possible dans une certaine mesure, et par conséquent la formation d'anticorps serait moins nécessaire en tant que réaction physiologique. *La formation d'anticorps serait ainsi fonction de la taille moléculaire de l'antigène.*

Les substances, nées du clivage des molécules protéiques, telles que celles dont nous avons parlé plus haut, qui peuvent s'unir aux anticorps, mais qui n'ont

pas apparemment, du fait peut-être de la faible grosseur de leur molécule, la propriété de stimuler la formation d'anticorps lorsqu'elles sont injectées dans un organisme animal, ont été appelées par LANDSTEINER *Haptènes.*

Nous avons vu qu'en dehors des fractions provenant d'un clivage protéique susceptibles de jouer le rôle d'haptènes, les lipoïdes et même des fractions polysaccharides peuvent jouer un rôle analogue, soit en étant des antigènes purement récepteurs, soit en conférant aux protéïnes auxquelles ils sont *unis une spécificité antigénique particulière.*

***

Telles sont donc les conceptions modernes du rôle, du mode d'action et de la nature des substances antigènes. Les théories de LANDSTEINER qui s'appuient sur un grand nombre de faits expérimentaux indiscutables sont susceptibles de jeter des lueurs nouvelles sur les phénomènes de l'immunité et sur ce qu'on est convenu d'appeler allergie. La notion d'haptènes permettra peut-être d'éclaircir bien des points encore obscurs des manifestations dites allergiques. Grâce à LANDSTEINER et à ses continuateurs des horizons nouveaux se sont découverts en bactériologie, en pathologie expérimentale, en biologie générale, en médecine.

***

Il était nécessaire de rappeler au lecteur ces notions fondamentales et récentes concernant les antigènes

et la formation des anticorps, pour lui permettre de donner leur juste valeur aux diverses actions physiopathologiques produites par les substances extraites des bacilles de Koch que nous allons étudier. Mais la réaction antigène-anticorps ne constitue qu'une des faces du problème de la tuberculose et pour la compréhension de tout ce qui va suivre, il nous faut considérer encore un autre aspect de la question, à savoir *l'aspect morphologique, anatomopathologique du problème de la tuberculose.* Loin de nous certes la pensée de retracer ici toute l'anatomie pathologique de la tuberculose, qui est connue du lecteur ; nous nous placerons à un point de vue beaucoup plus restreint, à savoir à celui du rôle des cellules, et en particulier des éléments blancs du sang et des cellules réticulo-endothéliales et conjonctives des tissus *comme facteurs de localisation ou de dispersion de l'infection tuberculeuse.*

CHAPITRE II

LES RÉACTIONS CELLULAIRES DANS LA TUBERCULOSE. LES FACTEURS CELLULAIRES DE DISPERSION ET DE LOCALISATION DE L'INFECTION TUBERCULEUSE, LE PROBLÈME DE LA BACTÉRIOPEXIE.

Les conceptions originelles de METCHNIKOFF (74) sur la phagocytose ne rendent pas pleinement compte des rôles variés pouvant être joués par les divers leucocytes dans la réaction de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux. C'est là une notion qui semble devoir être actuellement admise par de nombreux auteurs.

D'après la théorie de METCHNIKOFF, l'acte essentiel de la phagocytose n'est pas constitué seulement par l'englobement du microbe par le phagocyte, il ne commence vraiment que l'englobement terminé. La phagocytose se ramène à une digestion intracellulaire. La propriété fondamentale des phagocytes est la digestion intracellulaire (BURNET (75) 1911). Chez un animal réfractaire, d'après la même théorie, tout facteur

(74) E. METCHNIKOFF, *L'Immunité dans les maladies infectieuses*, Paris, 1901.

(75) Et. BURNET, *Microbes et toxines*, Paris, 1911.

capable d'amoindrir l'arrivée des leucocytes au contact du microbe, d'empêcher l'englobement de ce microbe, d'annihiler le pouvoir digestif du protoplasme des globules blancs favorisera l'infection. La phagocytose, telle que la concevait METCHNIKOFF, existe véritablement vis-à-vis de certains microbes ; ceux-ci exerçant sur les globules blancs une chimiotaxie positive, peuvent être non seulement englobés, mais digérés par les leucocytes, surtout polynucléaires, sans avoir sur ces derniers une action toxique trop prononcée. Mais il est de nombreux autres cas où la phagocytose selon METCHNIKOFF ne peut s'appliquer ; c'est le cas en particulier des bacilles tuberculeux, vis-à-vis desquels les *polynucléaires* sont impuissants. Alors *est mise en relief* une autre fonction des leucocytes et des cellules *macrophagiques* du système réticulo-endothélial, *fonction qui existe assurément dans tous les cas*, mais dont l'importance devient plus saisissante encore dans le cas des réactions cellulaires vis-à-vis des bacilles de KOCH. A savoir la fixation, la « pexie » cellulaire, l'englobement *avec ou sans* digestion.

Dans un très remarquable article paru récemment (76) NOËL FIESSINGER a donné une excellente classification de cette pexie qu'il a eu le tort cependant d'appeler « Bactériopexie de défense », car nous verrons que parfois la pexie ne joue pas de rôle dans la défense, et qu'elle peut dans certains cas lui être contraire.

FIESSINGER distingue :

La *bactériopexie circulante* et la *bactériopexie fixée*.

(76) NOËL FIESSINGER, *La bactériopexie de défense dans les septicémies* (*Presse médicale*, n° 57, p. 959, 16 juillet 1930).

La bactériopexie circulante est surtout opérée, fait qui n'est pas nettement précisé par FIESSINGER, et qui a autrefois été remarqué par BORREL, par les leucocytes polynucléaires (77). Le polynucléaire est le pivot de fixation principal de la bactérie, et, *du fait de son entraînement dans les courants lymphatique et sanguin*, est le vecteur principal de l'agent septique. *Le polynucléaire se montrera d'autant plus agent de généralisation de l'infection qu'il sera plus impuissant vis-à-vis du microbe qu'il aura englobé et que son pouvoir de digestion cellulaire sera plus faible* (78). Il joue donc un très grand rôle dans la genèse des septicémies et des métastases septiques.

L'englobement des bactéries par les polynucléaires est un processus *immédiat*. « Chez le chien, dit GOVAERTS, cité par FIESSINGER, après l'injection de staphylo- « coques, la phagocytose est intense et rapide. En même « temps, les leucocytes (c'est à dire les polynucléaires)

(77) Nous ne parlerons que pour mémoire du rôle attribué aux plaquettes sanguines par DEBREZ et GOVAERTS (cités par FIESSINGER). Dans le cas de septicémies à bactéries par trop virulentes, il se fait d'après ces auteurs une agglutination des microbes au voisinage des plaquettes, agglutination ayant pour effet de diminuer rapidement la densité bactérienne libre ; ce rôle est accessoire comparativement à celui joué par les polynucléaires dans la bactériopexie circulante.

(78) N. FIESSINGER et R. CATTAN (*Bulletin et Mémoires Soc. Med. Hx.*, 26 octobre 1928, t. III, p. 20) ont « objectivé » les tranports des bactéries par les leucocytes par leur intéressante méthode de « Microleucocytoculture ». En ensemençant dans les septicémies non le sang total, mais seulement le tapis leucocytaire obtenu par centrifugation citratée, on obtient aussi et plus facilement des cultures bactériennes, malgré que le prélèvement se fasse sur une quantité infime du produit.

Récemment J. CAUSSIMON (*Presse Med.*, 25 mars 1931, n° 24, p. 435) a décrit une méthode de recherche du B. K. dans le sang circulant, qui se rapproche de celle de FIESSINGER et CATTAN.

« disparaissent du sang circulant pour y pénétrer à « nouveau environ une demi-heure plus tard. Or ce « moment de retour des leucocytes est toujours accom- « pagné d'un crochet ascendant dans la courbe de « l'infection sanguine à ce moment décroissante ».

Concomitamment à la bactériopexie circulante, et lui faisant suite, a lieu la bactériopexie fixée. Elle se fait *suivant un déterminisme, qui doit différer dans une certaine mesure aussi selon les diverses infections*, fait dont ne parle pas non plus FIESSINGER.

Cette bactériopexie se fait essentiellement au niveau des cellules du système réticulo-endothélial. Ces cellules sont réparties dans tous les tissus et organes, mais il existe des éléments de la même famille dans le sang et la lymphe, à savoir les monocytes. Il est d'un très grand intérêt d'établir *le moment* où entrent en jeu les cellules appartenant au système réticulo-endothélial, ou en dérivant. L'action de ces cellules, qui sont des macrophages, est d'ailleurs plus ou moins efficace selon les microbes en cause, mais elle est particulièrement utile dans le cas d'infections causées par des bactéries résistantes aux polynucléaires. Ces derniers ne peuvent qu'englober les bactéries sans les détruire, et subissent même souvent leur action nocive. De tels cas sont réalisés dans les diverses tuberculoses.

Les macrophages au contraire se montrent souvent résistants aux B. K. Leur action peut dans certains cas se borner à l'englobement ou à l'emmurement des bacilles dans des formations telles que les follicules comportant en leur centre de nombreuses cellules géantes ; dans d'autres cas au contraire, il semble que

certains macrophages puissent digérer et détruire plus ou moins complètement les bacilles de Koch : il découle en effet des recherches de Metalnikov et Secreteva (79) qui ont étudié la phagocytose de bacilles peu virulents (ou avirulents : B. C. G). et des auteurs américains F. Sabin, C. A. Doan etc., (80) que certains macrophages appelés par les auteurs américains, après Ranvier, clasmatocytes et sur lesquels nous insisterons dans la troisième partie, sont doués du pouvoir de fragmenter et de désintégrer les bacilles tuberculeux lorsque ceux-ci ne sont pas trop virulents. Notons toutefois que de nombreux bacilles restent entiers et résistent plus ou moins complètement à la phagocytose.

Ce sont surtout les cellules réticulo-endothéliales et conjonctives qui édifient les lésions anatomopathologiques *spécifiques* de l'infection tuberculeuse, mais elles peuvent réagir également à cette infection selon des *processus non spécifiques.* : *La bactériopexie fixée peut donc se manifester sous une forme spécifique, ou sous une forme non spécifique.*

Nous verrons que si la réaction histiocytaire demeure surtout locale, et si cependant l'extension *locale* des lésions histopathologiques de la bacillose est le fait d'éléments histiocytaires, *la propagation plus lointaine se fait surtout après intervention des polynucléaires.*

Les deux types de réactions histopathologiques à

(79) S. Metalnikov et V. Secreteva, *Phagocytose et destruction des bacilles tuberculeux* (*Ann. de l'Inst. Past.*, mars 1927, t. XLI, p. 301).

(80) *Journ. Exp. Med.*, Supplément nº 3, t. LII, nº 6, 1er décembre 1930.

l'infection tuberculeuse, spécifique et non spécifique englobent les images histopathologiques suivantes :

Dans *les réactions spécifiques*, on peut ranger la formation de cellules géantes, de follicules et de tubercules. *Dans les réactions non spécifiques* peuvent rentrer *l'afflux des polynucléaires*, la néoformation de cellules indifférentiées, de fibroblastes, d'histiocytes, les proliférations vasculaires par division active de l'endothélium et de l'adventice. On doit également considérer *comme réactions non spécifiques les réactions exsudatives* (exsudations de sérosités, et de fibrine, etc.).

En réalité *dans la plupart des cas de tuberculose, on observe concomitamment les deux types de réaction* (81). C'est une notion extrêmement importante et qu'on ne doit pas perdre de vue. L'anatomie pathologique de la tuberculose est le plus souvent constituée par une succession et une intrication de lésions spécifiques et de lésions non spécifiques. *Les réactions cellulaires non spécifiques à l'infection tuberculeuse sont des facteurs moins efficaces de localisation des bacilles que les réactions spécifiques.*

Par l'étude de différents types histopathologiques observés dans la tuberculose, et l'observation atten-

(81) F. Bezançon et J. Delarue, ainsi d'ailleurs que M. Macaigne et P. Nicaud ont montré récemment que dans de nombreux cas et en particulier dans certains cas pour lesquels se posait un diagnostic clinique de granulie, on se trouvait en présence de formes mixtes dans lesquelles coexistaient des lésions de broncho-alvéolite et des lésions folliculaires.

F. Bezançon et J. Delarue, *Granulie et granulation tuberculeuse* (*Presse Médicale*, 15 mars 1930).

M. Macaigne et P. Nicaud, *Les lésions alvéolaires de la granulie expérimentale* (*Presse Médicale*, 17 décembre 1930).

tive des stades initiaux des réactions cellulaires au cours des tuberculoses expérimentales, nous rendrons patentes ces dernières notions, et nous mettrons en évidence *le rôle des polynucléaires en tant que facteurs de dispersion de l'infection tuberculeuse.*

***

Tuberculose folliculaire et tuberculose non folliculaire

La granulie *folliculaire* généralisée est une affection d'une assez grande rareté, et la maladie d'Empis est le fait de contaminations massives et surtout d'un essaimage rapide, et *immédiat* des bacilles, englobés précocement ou non par les polynucléaires.

Par ailleurs, l'existence de « *granulies froides* » et *localisées* paraît aujourd'hui démontrée.

Les lésions dans la granulie aiguë sont *isolées les unes des autres*. Le tissu intercalaire aux granules folliculaires peut être demeuré souple, crépitant et de la coloration normale.

« En dehors de la granulie généralisée, *affection* « *rare*, les granulations folliculaires macroscopiques « du poumon ne se rencontrent guère qu'à titre de « lésions secondaires locales de la phtisie chronique. Ce « sont de véritables semailles (vasculaires ou lympha- « tiques) rayonnant autour de foyers tuberculeux an- « ciens, broncho pneumoniques, ulcérés ou non. « (Letulle et Bezançon (82).» Et ajoutent ces auteurs :

(82) M. Letulle et F. Bezançon, *La granulation tuberculeuse*

« quant à l'asphyxie tuberculeuse » de GRAVES et à « la « granulie pulmonaire suffocante » de JACCOUD, « affection dans lesquelles une efflorescence de VRAIES « granulations tuberculeuses *demeureraient confinées au* « *seul parenchyme pulmonaire* et occasionneraient la « mort, nous ne saurions prendre parti. Dans les cas « par nous observés, *il s'agissait de tubercules milliaires* « bronchopneumoniques et non de granulations folli- « culaires.

« La genèse des follicules dans la tuberculose folli- « culaire est la suivante : le plus souvent un certain « nombre de bacilles emmurés franchissent la bar- « rière nucléaire, et se répandent autour de l'élément « giganti-cellulaire. La zone de tissu conjonctif en- « flammé circonscrivant l'élément giganti-cellulaire, « une fois envahie par les bacilles de KOCH périclite « à son tour, et voit ses éléments cellulaires succomber. « Cependant avant de se fondre dans l'élément caséeux « (qui détruira d'ailleurs souvent aussi la cellule géante « elle-même), ces cellules subissent une sorte de désin- « tégration dystrophiante, qui les transforme en élé- « ments ayant une vague apparence d'épithélium ; « d'où le nom assez mauvais d'ailleurs de cellules épithé- « lioïdes.

« Mais en dehors de la granulie, la tuberculose folli- « culaire évolutive ne se contente pas d'avoir semé sou- « vent en quantités innombrables ses follicules primi- « tifs dans la trame du poumon. Autour de chacun « de ces petits foyers bacillifères, l'organisme happe et

et le tubercule miliaire des poumons (*Presse Médicale*, 23 septembre 1922, n° 76, p. 817).

« enrobe un nombre variable d'ilots de bacilles pour « former dans l'épaisseur de la zone lymphoïde et « bien au delà de nouvelles cellules géantes, et par là, « même d'autres follicules primitifs. Ces nouveaux « venus s'adjoignent aux premiers, ils se conglomèrent « entre eux, par intussusception (LAENNEC), puis le con- « glomérat subit peu ou prou la nécrobiose caséeuse : « une granulation *tuberculeuse*, autrement dit un « nodule plurifolliculaire, caséifié en son centre, en « résulte.

« *La caséification est marquée par un afflux de poly-* « *nucléaires.* La fonte cavitaire de tout bloc caséeux, « s'effectue par le mécanisme suivant : *Assaillis par des* « *afflux de leucocytes polynucléaires* qui morcellent la « matière nécrobiotique en l'infiltrant peu à peu de « leurs nappes purulentes, les bacilles de KOCH « paraissent en reviviscence, ils pullulent par colonies « innombrables ; *libérés, si l'on peut ainsi parler, par* « *la suppuration, ils sont projetés dans la bronche*, où, « repris par les courants d'air, ils s'en vont au loin, « en quête de nouveaux foyers à fonder. » (LETULLE et BEZANÇON).

Les polynucléaires sont donc des agents de dispersion de l'infection tuberculeuse. *Ils subissent sous l'influence des poisons tuberculeux une désintégration qui semble entraîner comme conséquence l'exaltation de la virulence des bacilles.*

La phagocytose polynucléaire du bacille de KOCH *est donc le plus souvent néfaste.*

Dans le cas de tuberculose non folliculaire du type de celle obtenue par exemple par injection directe dans

la trachée du lapin d'une culture de bacilles, ou dans les cas si fréquents de broncho-alvéolite bacillaire non folliculaire, si bien décrits par LETULLE et BEZANÇON il en est de même.

Chez le lapin après injection trachéale de bacilles on obtient un processus *d'alvéolite banale*, caractérisée dès le premier jour par l'envahissement des alvéoles pulmonaires par une énorme quantité de cellules, présentant selon certains auteurs les caractères des *cellules à poussière*. La plupart de ces cellules contiennent des bacilles et sont comme noyées dans un *épanchement non moins considérable de leucocytes polynucléaires*, qui bientôt subissent des processus de dégénérescence. Dans ce cas, comme l'écrivent LETULLE et BEZANÇON, de même que dans la broncho-alvéolite bacillaire aiguë de l'homme, la localisation de l'infection par les réactions cellulaires se fait très incomplètement : « l'orga-
« nisme ne peut mieux faire que d'appeler à l'aide les
« apports hyperdiapédétiques des globules blancs (poly-
« nucléaires) et des cellules mononucléaires (macro-
« phages, etc.) et les exsudations de sérosité et de
« fibrine ; de leur côté les épithéliums bronchiques et
« alvéolaires prolifèrent. Bref, la gamme entière de
« l'inflammation broncho-alvéolaire *non spécifique* se
« développe en toute hâte, sans ordre, en vue d'immobi-
« liser les bacilles. *Mais ceux-ci paraissent n'avoir rien*
« *à craindre de tant de processus réactionnels.* En effet,
« à mesure que la cavité aérienne se remplit d'exsu-
« dats et d'éléments proliférés, la toxine caséogène
« réduit le tout en masses anhistes, fibrinoïdes et
« granulo-graisseuses. *Le foyer qui en résulte est* éminem-

« ment propice à la multiplication des bacilles et à « l'extension centrifuge de la caséification du paren- « chyme pulmonaire. »

La fonte cavitaire du bloc caséeux est marquée par un afflux de polynucléaires.

Ainsi donc, tout en tenant compte bien entendu des effets toxiques et nécrotiques locaux dus aux bacilles de Koch, qui, lorsqu'ils sont nombreux et virulents frappent de mort et font dégénérer de nombreuses cellules, on peut dire que pour la dispersion des bacilles de Koch, *l'englobement des bacilles par les polynucléaires, et l'absence de formations folliculaires spécifiques* constituent des facteurs très importants. Cette notion est encore rendue plus évidente quand on étudie expérimentalement l'histogénèse du follicule tuberculeux, et les réactions cellulaires initiales dans la tuberculose expérimentale.

***

Les réactions cellulaires dans les tuberculoses expérimentales

Les recherches initiales de A. Borrel (83). — Les expériences classiques faites par Borrel (83) en 1893, demeurent, *malgré tous les travaux qui ont suivi, fondamentales*, et méritent d'être décrites avec quelques détails.

(83) A. Borrel, a) *Tuberculose pulmonaire expérimentale. Etude anatomopathologique du processus obtenu par injection veineuse* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, août 1893, t. VII, p. 593).

b) *Tuberculose expérimentale du rein* (*Ann. de l'Inst. Past.*, février 1894, t. VIII, p. 65).

Borrel a tuberculisé le lapin par injection intraveineuse dans la veine de l'oreille d'une émulsion de bacilles de Koch humains virulents. Les bacilles entraînés par le torrent circulatoire sont presque immédiatement arrêtés par le filtre pulmonaire, Borrel sacrifiant les animaux soit immédiatement, soit 10 minutes, 1 /2 heure, 3 heures, 14 heures, 2 jours, 5 jours, 10 jours après l'injection a pu observer ce qui se passait au niveau du parenchyme pulmonaire. Il a décrit, comme les auteurs modernes tels F. Bezançon, Macaigne Nicaud etc.., d'une part un processus intra-vasculaire d'autre part, un processus alvéolaire. Mais il a eu le grand mérite sur les auteurs modernes d'avoir su voir *les stades les plus précoces*, suivant l'inoculation intraveineuse des bacilles. Il a su observer ainsi la *réaction polynucléaire initiale*, qui n'est plus aussi nettement mise en évidence dans les travaux modernes. Il a saisi sur le vif la différence fondamentale existant entre ce qu'on est convenu d'appeler la phagocytose polynucléaire (84), caractérisée par l'afflux *éphémère* et immédiat d'un élément circulant, qui repasse ensuite dans le sang (ou est englobé par les macrophages), mais qui réapparaît plus tard en abondance si la caséification se produit, et l'englobement macrophagique, plus lent à se déclancher, mais plus soutenu, de durée beau-

(84) L'englobement polynucléaire phénomène immédiat, peut expliquer dans une certaine mesure le fait qu'au cours d'une fièvre typhoïde par exemple, les hémocultures soient positives au début ; plus tard le *processus inflammatoire est fixé* ; les hémocultures sont négatives, la polynucléose s'est atténuée. Elle pourra réapparaître, et les hémocultures pourront redevenir positives au cours de rechutes.

coup plus longue, qui est l'apanage d'éléments relativement plus *fixes*.

Notons à ce propos que les notions couramment répandues par certains auteurs étrangers tels MAXIMOW sur les travaux de BORREL sont inexacts : nous verrons en effet, que BORREL n'attribue pas comme le dit MAXIMOW (85) aux cellules épithélioïdes une origine exclusive à partir du sang. Il a parfaitement la notion du rôle joué par des éléments fixes des tissus, telles les cellules à poussière dans les processus d'alvéolite tuberculeuse, bien avant qu'on ait individualisé un système réticulo-endothélial.

Le processus intravasculaire décrit par BORREL est le plus précoce :

Dans les premières heures suivant l'inoculation intraveineuse de l'émulsion bacillaire, tous les capillaires et les vaisseaux du poumon montrent une *leucocytose polynucléaire intense*. De très nombreux polynucléaires ont englobé des bacilles. Mais les jours suivants *cette leucocytose diminue*. Dès le troisième jour, les polynu-

(85) A. MAXIMOW, *J. Inf. Dis.*, 1924, t. XXXIV, p. 549 (*Tuberculosis of Mammalian tissue in vitro*). MAXIMOW a étudié l'histogénèse des follicules tuberculeux en culture des tissus, condition s'éloignant d'ailleurs dans une certaine mesure des conditions physiologiques. Il a pu observer la transformation de types variés de lymphocytes en larges cellules phagocytaires du type qu'il appelle polyblastes (voir p. 169, 170 et 171, troisième partie, la définition de ce dernier élément). Ajoutons de plus que si MAXIMOW a vu l'endothélium des capillaires proliférer et se transformer en fibroblastes, il n'a jamais vu ces fibroblastes donner des cellules phagocytaires amiboïdes du type polyblaste et se transformer en cellules épithélioïdes. D'après MAXIMOW et en parfaite conformité avec les recherches initiales de BORREL le principal mécanisme de la formation des cellules géantes est la *fusion des cellules mononucléaires*.

cléaires commencent à présenter des signes de dégénérescence : état trouble du noyau, chromatolyse, *et ils disparaissent le cinquième jour.*

Coïncidant avec l'afflux polynucléaire local, suivant presque immédiatement l'inoculation intraveineuse des bacilles chez le lapin, on observe ainsi que LACAPÈRE l'a montré (86), une hypoleucocytose polynucléaire sanguine. Cette hypoleucocyctose polynucléaire sanguine est passagère. Les jours suivants, les polynucléaires réapparaissent dans le sang circulant.

Pendant ce temps, dès la fin du deuxième jour, alors que les leucocytes polynucléaires commencent *à présenter des signes de désintégration*, on constate dans les vaisseaux et capillaires dilatés, aux endroits où se trouvent réunis bacilles et leucocytes polynucléaires, l'arrivée de nouveaux éléments dont le rôle sera plus durable : ce sont de grandes cellules à noyau unique vésiculeux, gros et peu chromatiques, à protoplasma abondant, présentant des expansions nombreuses, ce sont de grandes cellules mononucléaires (87). Ces cel-

(86) LACAPÈRE, *Le Macrophage*, Thèse de Paris, 1902.
LACAPÈRE observa chez le lapin après inoculation intraveineuse de B. K. 3 stades successifs de réactions leucocytaires sanguine Hypolencocytose, Polynucléose, Mononucléose.

(87) Nous employons ici à dessein le terme générique de « cellules mononucléaires ». Nous n'ignorons pas les recherches déjà anciennes de RENAUT et DUBREUIL (*Bibliographie anatomique*, t, XIX) et celles beaucoup plus récentes de MAXIMOW (*J. Inf. Dis*, 1924, t. XXXIV, p. 549). Mais la question de l'origine des histiocytes, des monocytes, ou des cellules appelées polyblastes par MAXIMOW est par nous laissée momentanément de côté. Nous appelons donc tous ces éléments « cellules mononucléaires » et nous étudions les polynucléaires et les cellules mononucléaires non pas du point de vue de leur origine tissulaire ou systématique, qui est d'ailleurs en grande partie élucidée, mais en tant que facteurs, soit de localisation soit de dispersion du bacille de KOCH.

lules mononucléaires siègent toujours à la périphérie du vaisseau ou du capillaire ; le centre est occupé par les bacilles, et les amas de leucocytes polynucléaires dont beaucoup ont englobé des bacilles. Bientôt des cellules mononucléaires situées sur la paroi vasculaire vont envoyer des expansions dans la direction des bacilles et de certains polynucléaires plus ou moins dégénérés *et les englober*, le noyau restant toujours de la périphérie. Ces pseudopodes sont parfois très longs et la cellule géante résulte de la confluence progressive d'un grand nombre de ces éléments. Les cellules mononucléaires demeurées plus périphériques se transforment en cellules épithélioïdes. Le follicule tuberculeux est ainsi constitué.

Tandis que se produisent dans les poumons ces processus intra-vasculaires, il apparaît aussi des modifications dans certaines cellules des alvéoles pulmonaires les cellules dites à poussière (staubzellen des Allemands). Nous savons maintenant que l'on peut considérer ces cellules comme appartenant au système réticulo-endothélial, qui n'est en somme qu'une partie du vaste système trophique individualisé depuis longtemps par Borrel. Ces cellules qui existent à l'état normal et qui sont très reconnaissables à leur protoplasma dense et à la présence de grains noirs à leur intérieur sont au deuxième jour de l'inoculation en beaucoup plus grand nombre dans le voisinage immédiat des vaisseaux, où se passent les phénomènes que nous avons déjà décrits. *Beaucoup contiennent des bacilles, ou des leucocytes polynucléaires à différents stades de destruction.* On constate souvent à leur intérieur *la présence de débris de leucocytes polynucléaires et des bacilles.*

Comme dans les vaisseaux aux dépens des grandes cellules mononucléaires, il se forme à la même époque des cellules géantes dans les alvéoles aux dépens des cellules à poussière.

Les follicules tuberculeux formés vont progressivement grossir et constituer des tubercules de plus en plus considérables jusqu'à devenir des granulations visibles à l'œil nu. L'augmentation des tubercules paraît due, d'après BORREL, à la pénétration de nouveaux éléments soit par les capillaires avoisinant les granulations, soit par adjonction de nouvelles alvéoles dont la lumière se remplit d'éléments épithélioïdes. *Ces granulations affectent la forme de nodules et sont nettement délimitées par rapport aux alvéoles voisines parfaitement normales*, car nous retrouvons toujours une barrière de lymphocytes accumulés à la périphérie en couches concentriques.

Coïncidant avec la réaction macrophagique locale, on observe dans le sang du lapin à ce stade une mononucléose sanguine (LACAPÈRE).

Vers le 20e jour et les jours suivants va apparaître la caséification des tubercules. Le centre caséeux devient un milieu de culture où se développent des quantités énormes de bacilles. *Le ramollissement s'accompagne d'un nouvel afflux de leucocytes polynucléaires.* Entraînés par le courant lymphatique, bacilles, et *principalement polynucléaires ayant phagocyté des bacilles*, cellules mononucléaires, débris cellulaires vont aller envahir les ganglions lymphatiques péribronchiques, et de là l'infection tuberculeuse, surtout du fait de l'arrivée des polynucléaires, qui a disloqué le bloc

caséeux, et de leur migration va gagner des organes autres que le poumon : foie, rein, etc.

Tout le système pulmonaire lymphatique s'hypertrophie : lymphatiques et ganglions : il va bientôt se former de nombreuses granulations tuberculeuses (cellules géantes, follicules) le processus initialement localisé au poumon va se généraliser dans l'organisme.

Dans les expériences de BORREL, *le rôle des polynucléaires en tant qu'agents de dispersion de l'infection bacillaire n'est pas niable.*

Les faits observés par BORREL, étant connus, il nous a paru intéressant d'étudier à notre tour, en collaboration avec R. F. LE GUYON (88) les premiers stades de l'infection tuberculeuse, mais chez le cobaye, et en particulier chez le cobaye tuberculeux afin de rechercher si l'état de sensibilisation allergique modifiait de quelque manière les réactions cellulaires.

LES RÉACTIONS CELLULAIRES CHEZ LES ANIMAUX ALLERGIQUES

(*Expériences personnelles.*)

Réactions cellulaires et bactériopexie du bacille de KOCH dans les primo-infections et les réinfections expérimentales du cobaye. *Expériences personnelles.* — Nous

(88) Jean Albert WEIL et R. F. LE GUYON, *Réactions cellulaires et bactériopexie du bacille de* KOCH *dans les primo-infections et les réinfections tuberculeuses expérimentales du cobaye* : 1° *C. R. Soc. Biol.*, t. CV, p. 977 et 979. Séance du 12 décembre 1930, Ste de Biol. de Strasbourg, 2° *Gazette des Hôpitaux*, n° 8, 28 janvier 1931, p. 131.

LES DIFFÉRENTS STADES DE LA BACTÉRIOPEXIE DU BACILLE DE KOCH

(Réinfection expérimentale de cobayes tuberculisés de 30 jours. Inoculation intrapéritonéale)

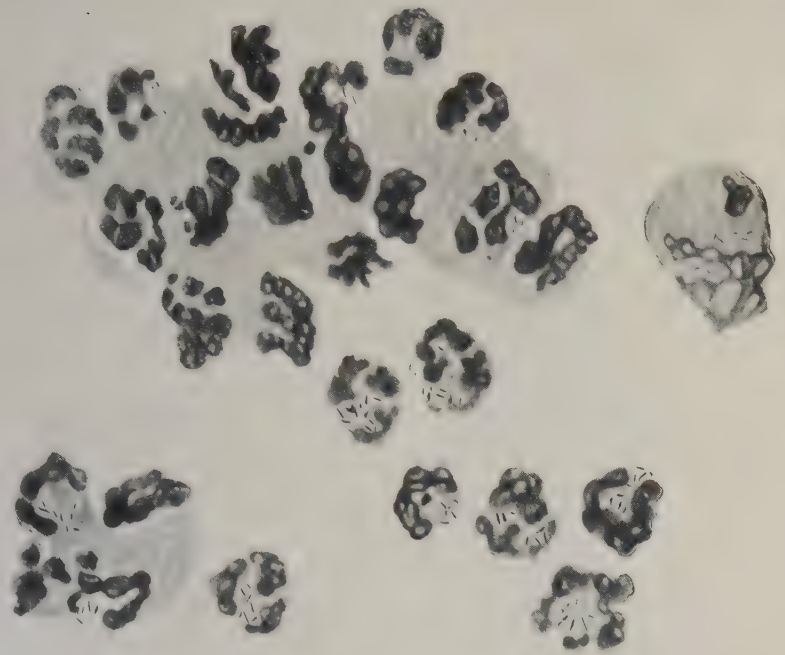

FIG. I

Stade d'Afflux Polynucléaire (5 heures)

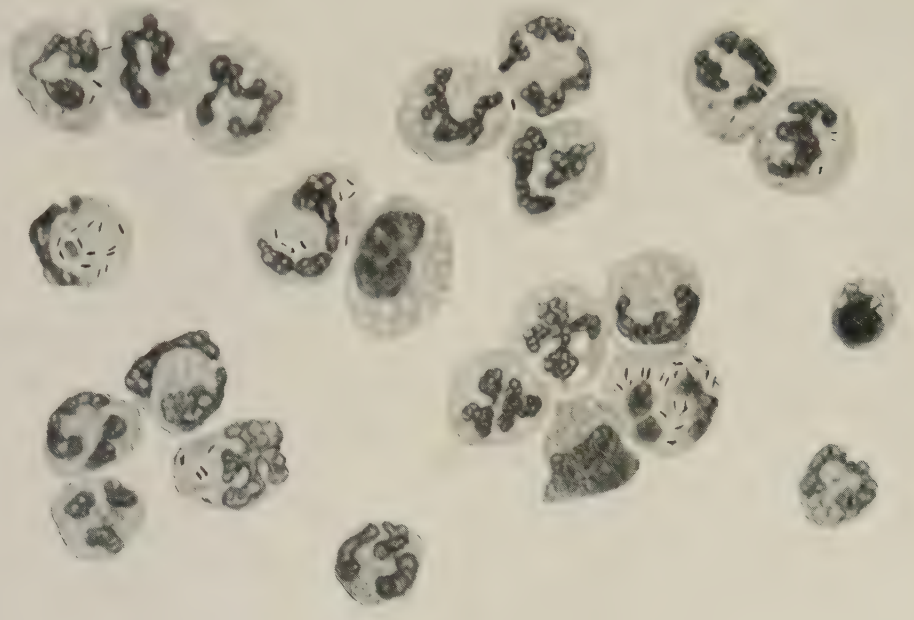

FIG. II

Stade d'Afflux Polynucléaire (12 heures)

(*Dans les figures ci-dessus, les B.K. sont figurés en noir*).

LES DIFFÉRENTS STADES DE LA BACTÉRIOPEXIE
DU BACILLE DE KOCH

(Réinfection expérimentale de cobayes tuberculisés de 30 jours.
Inoculation intrapéritonéale)

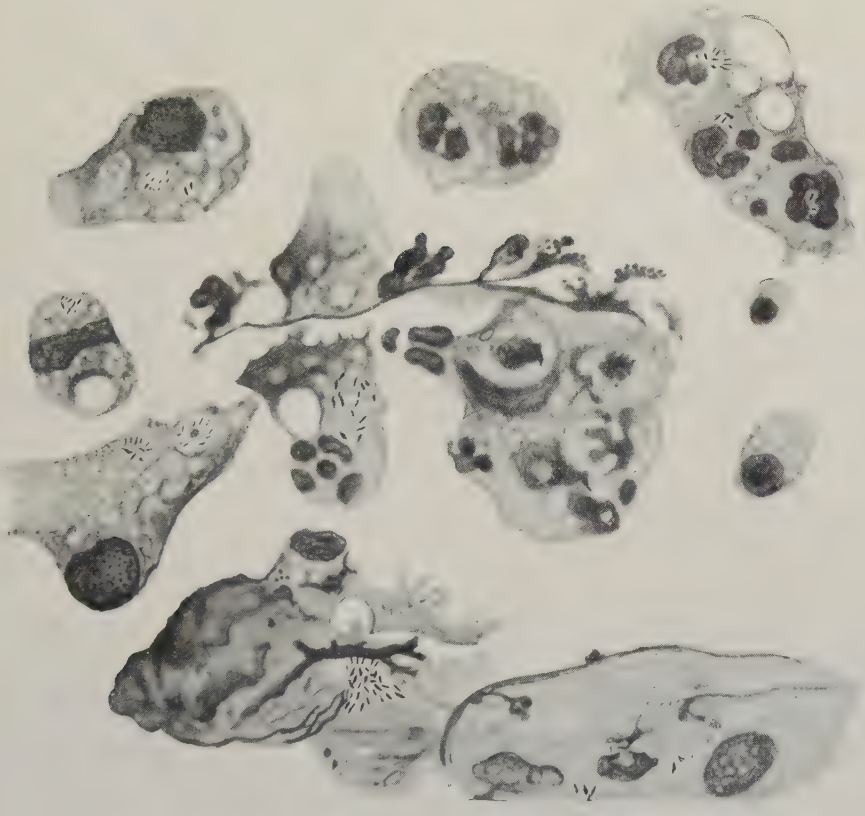

FIG. III

Englobement des B.K. *et des Polynucléaires* par les Macrophages (24 heures). On remarque des exsudats et filaments fibrineux. On remarque l'extension pseudopodique des Macrophages.

(Dans la figure ci-dessus, les B.K. sont figurés en noir)

LES DIFFÉRENTS STADES DE LA BACTÉRIOPEXIE DU BACILLE DE KOCH

(Réinfection expérimentale de cobayes tuberculisés de 30 jours. Inoculation intrapéritonéale)

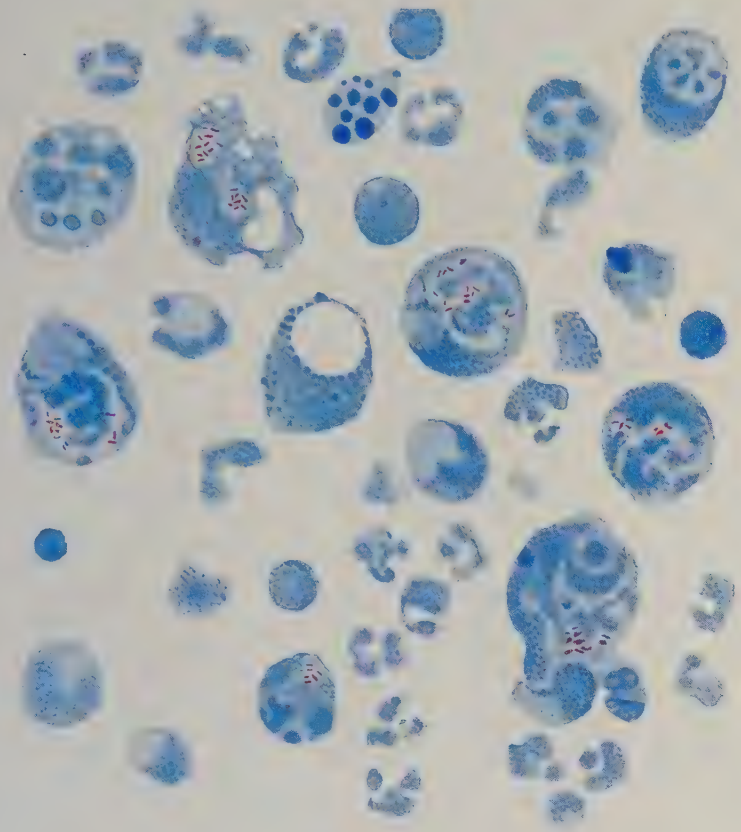

FIG. IV

Stade d'englobement des B.K. *et des Polynucléaires* par les Macrophages (24 heures). On remarque plusieurs Polynucléaires en état de dégénérescence picnotique.

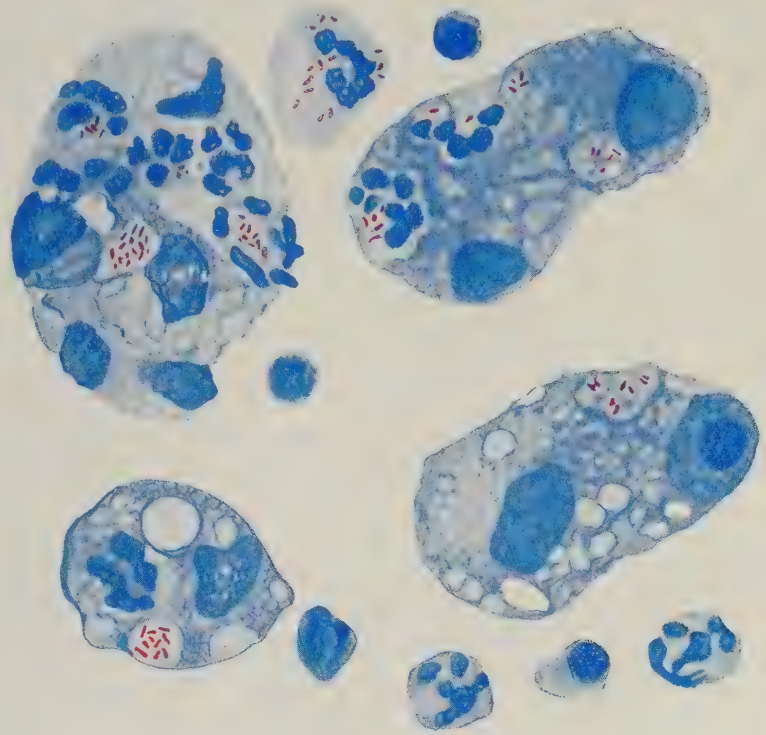

FIG. V

Fusion des Macrophages et formation de cellules géantes (48 heures).

avons utilisé dans nos expériences deux cobayes tuberculisés de trente jours avec une souche bovine VALLÉE virulente, deux cobayes inoculés avec des produits pathologiques, l'un 6 mois, l'autre 4 mois auparavant, porteurs de ganglions tuberculeux, mais ne présentant pas d'ulcération caséeuse, et 2 cobayes sains. Chez ces divers animaux, nous avons pratiqué une inoculation intrapéritonéale de 2 cc. d'une émulsion opalescente de bacilles de KOCH bovins, virulents, souche VALLÉE. Nous avons, de plus, utilisé comme témoins deux cobayes sains et deux cobayes tuberculeux, chez lesquels nous avons pratiqué une injection intra-péritonéale de 2 cc. d'eau physiologique. Chez tous ces animaux, nous avons fait, à divers stades, des prélèvements de sérosité péritonéale.

Notre technique a été la suivante :

Les cobayes ont été rasés sur une surface d'environ 4 centimètres carrés, et l'on a pratiqué une petite incision abdominale de la peau et des plans musculaires sous-jacents. On a perforé le péritoine avec une sonde cannelée, et l'on a prélevé l'exsudat péritonéal avec une pipette PASTEUR dont l'extrémité a été rodée à la flamme pour éviter toute lésion et hémorragies intestinales. On a fait des frottis de sérosité, qui ont été examinés après coloration les uns à la thionine ou au bleu de méthylène, les autres par la méthode de ZIEHL.

RÉSULTATS OBTENUS (89). — *Cinq heures après l'inoculation* : polynucléose importante dans la sérosité péri-

(89) Pour les détails de nos expériences, voir *C. R. Soc. Biol.*, t. CV, p. 977 et 979.

tonéale des cobayes sains. Polynucléose *encore plus importante* au même stade chez les cobayes tuberculeux de trente jours, à tel point que les éléments mononucléaires ont entièrement disparu du champ, envahi par des polynucléaires en grand nombre. *De nombreux polynucléaires ont englobé des bacilles de Koch* (fig. I et II).

Vingt-quatre heures après l'inoculation, l'aspect a changé. Les cellules mononucléaires réapparaissent en assez grand nombre dans le champ. De nombreux polynucléaires présentent des signes de dégénérescence. Etat trouble du noyau, chromatolyse, noyau en picnose. *De nombreuses cellules mononucléaires ont englobé des bacilles de Koch et des polynucléaires dégénérés. La macrophagie est plus intense chez les cobayes tuberculeux de trente jours que chez les cobayes sains.* Déjà, chez les cobayes tuberculeux de trente jours, des cellules mononucléaires se sont accolées ébauchant la formation de cellules géantes (fig. III et IV).

Quarante-huit heures après l'inoculation, le nombre des polynucléaires a considérablement diminué. L'englobement des polynucléaires plus ou moins dégénérés et des bacilles par les macrophages est intense.

Chez les cobayes tuberculeux de trente jours, on constate des ébauches nettes de cellules géantes (fig. V).

Enfin, quatre jours après l'inoculation la réaction est fixée sur le péritoine. Sur des frottis d'épiploon on voit que les polynucléaires ont presque entièrement disparu. Il y a une réaction épithélioïde marquée, et des cellules géantes.

Chez les cobayes anciennement tuberculeux et porteurs d'ulcérations et de lésions tuberculeuses étendues

la réaction polynucléaire est moins précoce, et surtout la macrophagie moins intense.

Conclusions. — Il ressort des constatations précédentes que chez les cobayes sains inoculés par voie intrapéritonéale avec une souche bovine *virulente* l'entrée en jeu des macrophages est relativement tardive, la dispersion des divers éléments persistant semble-t-il, plus longtemps chez le cobaye sain que chez les cobayes tuberculeux réinoculés avec des bacilles virulents.

Chez ces derniers il nous faut considérer deux cas :

1° Chez les cobayes tuberculeux de trente jours la réaction polynucléaire est intense, suivant presque immédiatement la réinoculation. Mais l'action des macrophages est également précoce et d'emblée très efficace, la formation de cellules géantes est rapide ;

2° Chez les cobayes tuberculeux anciens inoculés dans le péritoine avec une souche bovine virulente, la réaction polynucléaire est forte dans les cas considérés, mais moins marquée que chez les cobayes tuberculeux de trente jours. Les macrophages sont moins actifs. La tendance à la localisation des bacilles sur place est moins marquée, mais davantage cependant que chez les cobayes de primo-infection.

Les faits précédents expliquent aisément le mécanisme d'apparition du phénomène de Koch chez les cobayes tuberculeux de trente jours réinoculés avec des souches virulentes, le processus étant dans ce cas limité d'emblée, mais se traduisant par une destruction importante de polynucléaires, nécrose cellulaire et

formation de pus. Ils expliquent l'impossibilité de production du phénomène de Koch qu'on peut observer chez certains cobayes anciennement tuberculeux chez lesquels la réaction cellulaire, et partant ce qu'on est convenu d'appeler allergie tuberculeuse, a fléchi.

La conclusion générale à tirer des expériences précédentes, c'est que dès que la réaction polynucléaire a disparu, *il s'est produit une fixation relative du processus tuberculeux et que cette fixation est sous la dépendance de l'intensité de la macrophagie.* L'englobement macrophagique s'exerce à la fois sur les bacilles et sur les polynucléaires plus ou moins dégénérés. La phagocytose polynucléaire du bacille de Koch est, si elle n'est pas entravée par la « pexie » macrophagique, un *facteur de dispersion de l'infection tuberculeuse.*

Notons toutefois qu'il est des cas où les réactions cellulaires locales sont impuissantes à localiser l'infection :

Il est évident en effet, comme A. Boquet et A. Saenz (90) l'ont encore tout récemment montré, que plus les processus réactionnels locaux sont étendus, plus la dispersion des bacilles a des chances de s'exercer, et *cela malgré l'intensité des réactions cellulaires* : des bacilles de Koch inoculés par exemple à des cobayes sains par voie intrapéritonéale subissent une dispersion précoce dans l'organisme de l'animal, étant donné la surface d'absorption considérable constituée par le péritoine, et malgré l'intensité des processus réactionnels des

(90) A. Boquet et A. Saenz, *Sur le mécanisme de l'infection, tuberculeuse inoculée par la voie péritonéale* (*C. R. Soc. Biol.* t. CV, nº 32, 28 novembre 1930, p. 506).

cellules « mononucléaires ». Il semble cependant, ainsi qu'il résulte de nos recherches que chez les animaux *déjà tuberculeux* et sensibilisés l'action cellulaire macrophagique d'arrêt et de localisation de l'infection soit plus précoce et plus efficace, à condition que l'infection bacillaire ne soit pas trop massive et virulente et que l'organe tuberculisé ne présente pas une surface d'absorption trop étendue.

En parfaite conformité avec nos recherches, et les résultats ci-dessus exposés, A. Boquet et J. Valtis (91) ont récemment montré que contrairement à ce qu'on observe chez les cobayes neufs, les bacilles tuberculeux virulents qu'on inocule à faible dose par la voie sous cutanée à des cobayes préalablement soumis à une injection massive de bacilles dépourvus de toute virulence comme le B. C. G., ou faiblement pathogènes restent fixés pendant six jours au lieu même de l'inoculation et d'après ces auteurs cette fonction bactériopexique *qu'acquiert le tissu conjonctif des animaux ainsi préparés* se montre d'autant plus efficace et suspend la dispersion des germes d'épreuve pendant un délai d'autant plus long *que ceux-ci sont inoculés en moins grand nombre.*

Il nous faut cependant remarquer que ces faits sont en contradiction avec ceux observés par Marion B. Sherwood (92). Cet auteur a en effet inoculé à des

(91) A. Boquet et J. Valtis, *Sur la dispersion des bacilles tuberculeux d'épreuve dans l'organisme des cobayes allergiques* (*C. R. Soc. Biol.*, t. CVI, 6 février 1931, n° 4, p. 253).

(92) Marion B. Sherwood, *Some cellular reactions and immunity in tuberculosis* (*Journ. of immunology*, décembre 1929, p. 481, t. XVII, n° 6).

cobayes des émulsions bacillaires peu virulentes et il a observé que la phagocytose de bacilles relativement avirulents par les cellules mononucléaires commencent plutôt chez l'animal non allergique que chez l'animal allergique. Mais de nombreuses constatations expérimentales ont amené nous l'avons vu d'autres auteurs à des conclusions entièrement différentes.

Et l'on peut dire avec L. U. Gardner (93) que les tissus allergiques répondent à l'invasion bacillaire par une accumulation plus précoce des cellules phagocytaires dans le foyer d'infection et par l'édification *plus rapide de lésions spécifiques*. C'est par la fixation *in situ* des germes virulents, par la délimitation de plus en plus étroite du champ de leur action pathogène et éventuellement par leur destruction ou leur élimination que se caractérise la résistance des organismes tuberculeux ou prémunis aux surinfections homologues (A. Boquet et J. Valtis).

Réactions exsudatives et allergie. — Il ne faudrait pas conclure de tous les faits que nous venons d'exposer que les réactions cellulaires soient les seules réactions qui se produisent à la suite de la pénénétration des bacilles de Koch dans l'organisme. Il se produit bien entendu des modifications humorales sur lesquelles nous aurons à revenir dans la troisième partie de cet ouvrage et que nous avons laissé pressentir quand nous avons parlé des substances antigènes, mais nous devons aussi insister sur ce point à savoir que les

(93) L. U. Gardner, *Amer. Rev. of Tuberc.*, 1929, t. XX, p. 201 (Cité par Boquet et Valtis).

réactions cellulaires s'accompagnent presque toujours de réactions exsudatives locales. Nous avons fait rentrer ces réactions *dans le cadre des réactions non spécifiques*. En effet les manifestations vasomotrices exsudatives de sensibilité et d'hypersensibilité aux protéines du bacille de Koch, ne diffèrent pas sensiblement des réactions inflammatoires ou nécrotiques aux agents mécaniques physiques ou chimiques, ou aux agents infectieux banaux.

Il semble donc difficile de distinguer comme le voudraient E. Rist, Doubrow et Roger Froment (94) des réactions exsudatives de type proprement allergique, de celles se produisant en dehors de tout état de sensibilisation antérieure. D'après ces derniers auteurs il est évidemment des cas d'infection tuberculeuse de première inoculation dont les lésions sont surtout exsudatives. Par exemple dans un cas de tuberculose aiguë du nourrisson dont ils présentent les coupes pulmonaires, ils montrent que la lésion constituée est surtout une lésion exsudative c'est-à-dire qu'elle est constituée par un épanchement intratissulaire à la fois cellulaire et liquidien avec son coagulum qui est ici la fibrine. Le réseau fibrineux englobe quelques éléments cellulaires en voie de nécrose de coagulation.

« L'état allergique n'influerait pas sur la morpholo-
« gie de la lésion initiale mais il tiendrait sous sa dépen-
« dance son évolution tant morphologique que biolo-
« gique. Dans les lésions exsudatives *de réinfection*

(94) E. Rist Doubrow et Roger Froment, *Etude morphologique du terrain allergique dans la tuberculose pulmonaire* (*Ann. de Médecine*, t. XXVIII, n° 3, octobre 1930, p. 310).

« *endogène*, la fibrine se transformerait beaucoup plus « rapidement que dans les lésions de première infection « en collagène, ce qui tendrait à limiter les lésions et le « processus tuberculeux. »

Tout cela est fort possible, et même vraisemblable, mais nous avons cependant peine à admettre que l'on puisse tirer des conclusions touchant l'état de sensibilisation allergique d'un sujet tuberculisé de l'étude de la réaction exsudative mise en évidence par des procédés spéciaux sur des coupes *isolées*, et des diverses modalités de son aspect.

Les processus exsudatifs et leur évolution peuvent d'ailleurs dépendre de facteurs très nombreux dont beaucoup n'ont rien à faire avec l'état de sensibilisation allergique (virulence et abondance des germes, leur localisation etc.). Il en est ainsi aussi bien dans l'infection tuberculeuse qu'au cours des processus inflammatoires les plus banaux. On ne peut donc dire qu'une transformation collagène d'un exsudat fibrineux ou même qu'un processus de sclérose constituent des réactions indiquant plus ou moins spécifiquement un état allergique. Nous verrons plus loin que la composition chimique du bacille infectant et la nature des poisons libérés du bacille *peuvent influer grandement sur les réactions histologiques et exsudatives.*

***

La formule sanguine au cours des tuberculoses. — L'importance des réactions cellulaires dans la tuberculose étant démontrée, on conçoit d'après tout ce qui précède

que le pronostic d'une tuberculose puisse dépendre dans une certaine mesure *du moment* où survient une réaction, polynucléaire locale qui se traduit bientôt par une polynucléose sanguine, et de l'intensité de cette réaction. On a tiré empiriquement des indications pronostiques, assez souvent justifiées des formules sanguines observées au cours des tuberculoses, mais dont on ne saisissait pas bien jusqu'ici le déterminisme. D'Oelsnitz (95) avait déjà en 1903 signalé dans sa thèse qu'une hyperleucocytose sanguine, surtout polynucléaire, apparaissait en général avec la fièvre hectique, *accompagnait la caséification* et diminuait avec elle en cas d'amélioration.

Dans les tuberculoses fermées, non évolutives, ou dans les tuberculoses ganglionnaires ou ostéo-articulaires, il ne constata le plus souvent qu'une leucocytose modérée avec polynucléose et mononucléose. La tendance à la mononucléose était d'autant plus grande que le processus tuberculeux était plus localisé. Il a observé parfois, il faut le dire, aux périodes d'aggravation une leucocytose modérée (11.000 à 12.000 éléments) mais la proportion des polynucléaires dans le sang circulant allait en augmentant jusqu'à dépasser 90 %. Par ailleurs l'aggravation était marquée par une disparition des éosinophiles.

D'Oelsnitz attribuait la polynucléose coïncidant avec l'aggravation des lésions à l'infection secondaire. Nous avons vu que cette infection secondaire n'était pas

(95) D'Oelsnitz, *La leucocytose dans la tuberculose et spécialement dans plusieurs formes de tuberculose infantile. Thèse de Paris*, 1903, Librairie Jules Rousset, éditeur, 1, rue Casimir Delavigne.

nécessaire quoiqu'elle existe souvent et que toute caséification était marquée par un afflux de polynucléaires au niveau du caséum.

Nous concluerons donc de tous les faits précédents, que dans la tuberculose une forte polynucléose est *l'indice d'une bactériopexie circulante qui est d'un effet néfaste.*

Il faut noter à ce propos qu'en dehors de la tuberculose, il est de nombreux cas où la bactériopexie circulante peut avoir d'heureux effets : car elle peut assurer le transport et l'exode des microbes vers les émonctoires naturels (reins, foie, poumons). Les microorganismes peuvent d'ailleurs également y être amenés à l'état libre par le courant sanguin qui les entraîne.

Par ces simples processus, la guérison peut survenir. Comme l'a fait si justement remarquer Noël Fiessinger, guérison *n'est pas synonyme de destruction bactérienne*, et l'on comprend d'après tout ce qui précède qu'une bactériopexie circulante sans véritable phagocytose puisse être selon les cas et selon le microbe en cause *un facteur de guérison ou un facteur d'aggravation.*

Au contraire de la polynucléose la mononucléose sanguine et surtout nous allons le voir la lymphocytose semble être le reflet d'une bactériopexie plus ou moins fixée ou tendant à se fixer. Cette bactériopexie fixée n'implique d'ailleurs pas la guérison, des processus de fibrose, de caséification, d'ulcération, etc., pouvant se produire localement. La tuberculose maladie locale peut avoir un sérieux caractère de gravité, de même

qu'une fièvre typhoïde, lorsque la réaction générale de l'organisme a disparu, peut être marquée de graves complications du fait de lésions locales.

Le Rapport Monocyte-Lymphocyte. — Nous avons dit plus haut que plus les lésions locales étaient étendues, plus les chances de dispersion du B. K. étaient grandes.

Une notion nouvelle qui a été bien mise en évidence par les auteurs américains et français (96) s'est fait jour récemment et est venue compléter les conceptions classiques que nous avons ci-dessus exposées : à savoir qu'il existe un rapport entre l'extension des lésions locales, et l'élévation du taux des monocytes dans le sang en comparaison avec celui des lymphocytes. Il semble y avoir corrélation entre le rapport monocyte-lymphocyte dans le sang et les réactions histiocytaires locales : plus la réaction histiocytaire est étendue, et moins les lésions locales dues à la bacillose sont limitées, plus le rapport monocyte-lymphocyte est augmenté (Ch. A. Doan et F. R. Sabin) ou inversement le rapport lymphocyte-monocyte est abaissé (De Sanctis Monaldi).

L'élévation du rapport monocyte-lymphocyte, ou

(96) Charles A. Doan et Florence R. Sabin, *The relation of the tubercle and the monocyte-lymphocyte ratio to resistance and susceptibility in tuberculosis* (*Journ. exp. medicine*, Supplément n° 3, t. LII, n° 6, 1er décembre 1930, p. 113).

b) De Sanctis Monaldi, *Variations du rapport des lymphocytes-monocytes dans l'infection expérimentale du cobaye par le bacille tuberculeux, l'ultravirus et le BCG. Considérations sur l'origine des monocytes.*

Ann. Inst. Past., t. XLIV, janvier 1930, n° 1, p. 70.

l'abaissement du rapport lymphocyte-monocyte, est d'un mauvais pronostic au cours des tuberculoses. Ces faits n'infirment en rien ce que nous avons dit du rôle joué par les polynucléaires en tant que facteurs de dispersion du processus tuberculeux. Les deux phénomènes peuvent d'ailleurs être concomitants et se produire corrélativement, les lésions locales gagnant de proche en proche, par intussusception cellulaire, (voir p. 110) et s'accompagnant d'une élévation du rapport monocyte-lymphocyte, l'afflux polynucléaire local (suivi bientôt de polynucléose sanguine) contribuant au moment de la caséification à l'extension et au transport métastatique de l'infection bacillaire.

L'élévation du rapport monocyte-lymphocyte, ou l'abaissement du rapport monocyte-lymphocyte *coïncide d'ailleurs le plus souvent avec l'augmentation des polynucléaires* : on observe par exemple à la période terminale chez des cobayes inoculés avec 1/1.000 de milligrammes de bacilles tuberculeux bovins une leucocytose progressive atteignant une valeur maxima de 25 à 26.000 avec polynucléose 60 à 63 %. Les éosinophiles diminuent rapidement et disparaissent définitivement un mois ou six semaines avant la mort. La formule d'Arneth dévie à gauche (97).

(97) Certains auteurs ont tiré des indications pronostiques dans la tuberculose des modifications de la formule d'Arneth, lorsque la formule d'Arneth dérive à gauche, c'est-à-dire lors qu'apparaissent dans le sang un assez gand nombre de formes jeunes de polynucléaires (forme à un rayon (myélocyte) on à 2 noyaux), le pronostic serait défavorable. Il découle des faits que nous avons exposés que dans la tuberculose toute prolifération et tout afflux polynucléaire sont d'un effet néfaste. On s'explique que les examens répétés de la formule d'Arneth chez un même sujet puissent fournir d'utiles renseignements pronostiques.

En même temps les *monocytes augmentent de nombre*, et certains d'entre eux présentent un aspect particulier (petite rosace centrale et vacuoles dispersées dans le protoplasme), le nombre des lymphocytes diminue, le rapport lymphocyte-monocyte tombe de 5,38 à l'unité, jusqu'à devenir négatif (DE SANCTIS MONALDI).

Au contraire, lorsque les sujets tuberculisés présentent une leucocytose modérée avec *mononucléose*, et rapport *lymphocyte-monocyte* élevé, on peut poser un pronostic relativement favorable. En matière de tuberculose, la mononucléose coïncidant avec une leucocytose modérée est en général d'un bon pronostic : *le rôle des cellules mononucléaires macrophages en tant que cellules d'arrêt et de localisation du processus tuberculeux se montre donc absolument confirmé* : le processus de fixation de l'infection tuberculeuse se traduit dans le sang par une mononucléose avec abaissement du rapport monocyte-lymphocyte ou élévation du rapport lymphocyte-monocyte.

Il est classique d'admettre d'une manière générale que les tuberculoses bénignes à évolution lente, les phtisies fibreuses, les formes ganglionnaires sans poussée conjonctive sont caractérisées par une *formule dite de résistance* (RICHARD) consistant en une leucocytose modérée, ne dépassant pas 10.000 par mm³ et par une lymphocytose assez prononcée, par une légère éosinophilie (la lésion est purement locale. La réaction histiocytaire locale a été précoce, elle n'a pas été entravée par la réaction polynucléaire).

S'agit-il, au contraire de cas d'infection massive, ou à virulence exaltée. la formule leucocytaire devient

une formule, dite *à tort* d'ailleurs, *de défense* : hyperleucocytose, polynucléose abondante avec diminution des lymphocytes. Enfin dans les tuberculoses ouvertes arrivées à la période de ramollissement avec cavernes et dans les formes caséeuses graves, on trouve une forte hyperleucocytose variant de 16 à 20.000 dans laquelle les *polynucléaires entrent pour une proportion de* 90 %, les lymphocytes et les mononucléaires moyens sont diminués de nombre, ainsi que les grands mononucléaires qui se montrent souvent en voie de dégénérescence. Les éosinophiles manquent presque totalement, ou sont dégénérés, fragmentés, éclatés : c'est la formule dite *de déchéance* (CALMETTE). La polynucléose est donc un signe révélateur de tuberculose en évolution. *Nous comprenons pourquoi.*

***

La « dérivation des polynucléaires » (*Expériences de* Ch. MADELAINE). — Il découle de toutes les notions qui précèdent que dans le cas de la bacillose, la chimiotaxie positive exercée par les bacilles vis-à-vis des polynucléaires est donc très forte et que D'AUTRE PART LES BACILLES SONT AU PREMIER CHEF DES POISONS DES POLYNUCLÉAIRES, de telle sorte que le seul processus cellulaire efficace dans la défense sera la réaction des cellules mononucléaires macrophages, cellules qui appartiennent au système réticulo-endothélial. *Il y a donc un très grand intérêt à permettre l'entrée en scène aussi précoce que possible des macrophages.*

La réaction des cellules mononucléaires locales dé-

pend en grande partie de la virulence et du nombre des bacilles infectants. Elle sera vraisemblablement d'autant plus précoce et plus intense que les bacilles seront moins nombreux et moins virulents. L'importance et l'intensité de l'afflux polynucléaire local sont dans une certaine mesure proportionnelles *au nombre et à la virulence des bacilles infectants*. C'est là une notion d'un très grand intérêt ainsi que vont le démontrer les faits que nous allons maintenant exposer.

Dembinski (98) étudiant la phagocytose chez le pigeon à l'égard du bacille tuberculeux aviaire et du bacille humain a constaté les faits suivants : alors que dans le cas de l'inoculation de bacilles aviaires, la réaction locale était surtout polynucléaire dans les 48 premières heures, elle était mixte d'emblée à la fois à polynucléaire et à cellules mononucléaires dans le cas d'inoculation de bacilles humains, qui ne sont pas virulents pour le pigeon. Charles Madelaine (99) inoculant des caroncules de poules avec des bacilles humains et bovins a observé des phénomènes analogues. Se basant sur tous ces faits, il entreprit dans le laboratoire de son maître Borrel, ses ingénieuses expériences dites de dérivation.

Madelaine se dit que si par un moyen quelconque il arrivait à *empêcher* l'arrivée précoce des polynucléaires en un point d'appel extravasculaire, en l'espèce cons-

(98) Dembinski M., *La phagocytose chez le pigeon à l'égard du bacille tuberculeux aviaire et du bacille humain. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle* (*Ann. de l'Instit. Past.*, mai 1899, nº 5, t. XIII, p. 426).

(99) Madelaine Charles, *Phagocytes et bacille tuberculeux*, Thèse de Paris, 1919, Jouve et Cie, éditeurs.

titué par le lieu d'inoculation d'une émulsion virulente de B. K. il arriverait peut-être à retarder l'évolution de la tuberculose chez l'animal considéré, les cellules mononucléaires pouvait agit plus précocement pour limiter l'infection.

MADELAINE s'est basé pour ses expériences de dérivation sur les faits suivants, qui permettent de donner une portée plus large aux conceptions exposées plus haut de la bactériopexie circulante et de la bactériopexie fixée. Ces faits montrent nettement *combien général et important est le rôle joué en physiologie et en pathologie humaine et animale par les migrations massives de polynucléaires d'un point à l'autre de l'organisme*, ceux-ci s'agglomérant en masse dans certaines régions à l'intérieur des capillaires et aussi en dehors d'eux dans les tissus enflammés pour refluer ensuite dans la circulation générale.

« SPILMANN L. et BRUNTZ L. en 1911 (100) au cours « de recherches sur l'élimination de substances colorées « injectées dans la cavité générale des invertébrés et « dans l'appareil circulatoire des vertébrés eurent leur « attention attirée sur le rôle joué par les globules « blancs comme agents de fixation et de transport des « substances étrangères à l'organisme. Dès que cer- « tains corps (microbes, encre de Chine, carmin), sont « introduits dans l'organisme, l'individu sain tend à « s'en débarrasser très rapidement. L'élimination de « ces substances comprend plusieurs temps qui sont « 1° Leur fixation par certaines formes de leucocytes ;

(100) SPILMANN L. et BRUNTZ L. *Le leucocyte éliminateur en physiologie et pathologie*, Nancy, 1911, cités par Ch. MADELAINE.

« 2° leur transport par ces éléments figurés (phase de « transport) ; 3° leur décharge dans les organes d'excré- « tion (rein, foie, etc.) » ou leur fixation au niveau de certaines cellules des tissus.

Il est à noter à ce propos qu'il est nécessaire que les substances injectées soient formées de particules relativement grosses pour qu'elles puissent être englobées par les polynucléaires. Si l'on injecte des colorants vitaux qui sont à l'état de solutions colloïdales, il n'y a pexie que par les cellules réticulo-endothéliales. Bien que cette question *n'ait pas été entièrement élucidée en ce qui concerne les tous premiers stades suivant l'injection d'un colorant vital*, il ne semble pas, ainsi que l'ont montré récemment Bratianu et Guerriero (101), que les polynucléaires aient un pouvoir colloïdopexique. Malgré cela, l'injection de produits à l'état colloïdal, entraîne *cependant des migrations polynucléaires*.

C'est ainsi qu'une injection intraveineuse de collargol chez un lapin abaisse le chiffre des leucocytes dans la circulation périphérique de près de 2.000 en 16 minutes, stade d'hypoleucocytose durant quelques minutes, suivi d'un stade d'hyperleucocytose. Une injection de 2 cc. de carmin ammoniacal amène une hypoleucocytose assez forte, 4.000 en vingt-neuf minutes. A ce stade d'hypoleucocytose qui dure en moyenne une demi-heure, succède un stade d'hyperleucocytose (102).

(101) Bratianu et C. Guerriero, *La cellule pulmonaire. Sa fonction histiocytaire.* (Trav. de l'Inst. d'Histologie de la Fac. de Med. de Strasbourg). (*Arch. d'Anat., d'histologie et d'embryologie*, t. XI, 1930, p. 423, Strasbourg.)

(102) Ces expériences sont à rapprocher de celles de Govaerts que nous avons citées à la page 104.

« Werigo en 1892 (103) montre que les leucocytes « polynucléaires ayant capturé des substances inertes « (grains de carmin) les transportent dans le foie et dans « la rate. *C'est pendant que les globules blancs se rendent « ainsi dans ces organes, chargés des produits qu'ils ont « fixés, que l'ont remarque l'hypoleucocytose signalée « plus haut.* Ces globules blancs, dans le foie et dans « la rate, abandonnent les grains de carmin et rentrent « dans la circulation générale, et leur nombre augmenté « de celui des éléments néoformés pendant le stade « d'hypoleucocytose constitue l'hyperleucocytose.

« Chez le lapin en effet Achard et Weil en 1907 (104) « ont constaté qu'après une injection de collargol, la « moelle osseuse et la rate présentaient des signes de « prolifération active.

« Ces expériences montrent qu'à l'aide d'une injection « intraveineuse de produits étrangers, il est possible « d'éloigner les leucocytes polynucléaires d'un terri- « toire vasculaire donné pendant un certain temps. « *Cette hypoleucocytose polynucléaire locale coïncidant « avec la phase de transport est de quantité et de durée « variables avec la nature du produit injecté.* (Ch. Made- « laine). »

Charles Madelaine à pratiqué pour obtenir les résultats qu'il cherchait, par exemple une ou plusieurs injections intraveineuses chez des lapins d'une émulsion de

(103) Werigo, *Les globules blancs comme protecteurs du sang* (*Ann. de l'Inst. Past.*, t. VI, p. 478, 1892), cité par Ch. Madelaine.

(104) Achard C. et Weil P., *Le sang et les organes hématopoïétiques du lapin après injection intraveineuse de collargol* (*Comptes rendus de la Société de Biologie*, t. LXII, p. 93, 1907). Cités par Ch. Madelaine.

staphylocoques tués par la chaleur ou d'une émulsion de spores d'Aspergillus fumigatus. Ces inoculations avaient vraisemblablement pour effet *de retenir les polynucléaires à l'intérieur des vaisseaux et capillaires*, et d'empêcher dans une certaine mesure leur afflux diapédétique extérieur. Ces faits peuvent peut-être recevoir l'interprétation suivante, à savoir que l'expérimentateur ayant introduit dans l'appareil vasculaire des éléments phagocytables en plus grand nombre, susceptibles de retenir plus efficacement et d'attirer davantage les polynucléaires que les micro-organismes introduits dans la zone d'inoculation, l'attraction des globules blancs vers la région menacée fait défaut : si par exemple, chez les lapins, on pratique une ou plusieurs injections intra veineuses d'1 cc. d'une émulsion de spores d'Aspergillus fumigatus et si 1/4 d'heure après la dernière injection, on fait une injection intra-pleurale d'1 cc. d'une émulsion de B. K. bovins virulents, on constate qu'au bout de 24 à 48 heures, contrairement à ce qui se passe chez les témoins, il ne se produit aucun épanchement pleural chez les animaux ayant subi les inoculations préalables de dérivation. D'autre part des animaux ainsi traités présentent en général une survie de 40 à 60 jours par rapport aux témoins.

Si on pratique chez des lapins une ou deux injections intra veineuses d'une émulsion de spores d'Aspergillus fumigatus, et si on pratique quelques heures après la dernière injection dérivante une injection intra veineuse d'un cc. d'une émulsion opalescente de B. K. bovins virulents on observe une survie de 30 à 40 jours et plus chez les animaux ainsi traités par rapport aux témoins.

Par des coupes histologiques du poumon, pratiquées dans les heures suivant l'injection des bacilles de Koch selon la méthode de Borrel, on constate que chez les animaux ayant subi les inoculations préalables de dérivation, il ne se produit plus d'afflux polynucléaire au niveau des poumons comparable à celui que l'on observait chez les témoins. Les polynucléaires ont déjà été sollicités à l'intérieur des vaisseaux par les spores d'aspergillus, et demeurent à l'intérieur des vaisseaux. Les bacilles sont retenus comme par un filtre au niveau des poumons où ils sont englobés précocement par les cellules mononucléaires. Cet englobement précoce par les cellules mononucléaires entraîne une localisation plus efficace de l'infection bacillaire. L'inoculation de dérivation a eu pour effet d'empêcher la production d'un afflux polynucléaire précoce à la suite de l'inoculation des bacilles.

Influence de la dérivation leucocytaire sur les stades initiaux de la bactériopexie du B. K. chez le lapin (*Expériences personnelles*). — Etant donnés les résultats obtenus par Madelaine, nous avons voulu avec R. F. Le Guyon étudier l'influence de la dérivation leucocytaire sur les stades initiaux de la bactériopexie du B. K. chez le lapin. Pour cela, nous avons fait chez 4 lapins une injection *intraveineuse* de 2 cc. d'une émulson opalescente de staphylocoques tués par la chaleur, suivie 10 minutes plus tard d'une nouvelle injection intra veineuse de 6 cc. de la même émulsion microbienne.

Un quart d'heure après la dernière inoculation intraveineuse, nous avons pratiqué par voie intrapéritonéale

une injection de 4 cc. d'une émulsion de B. K. bovins virulents, souche VALLÉE. Nous avons ensuite, par des prélèvements de sérosité péritonéale faits à la pipette Pasteur selon notre technique habituelle (voir p. 119), étalement et coloration de la sérosité au ZIEHL, suivi les différentes étapes des réactions cellulaires, 1/4 d'heure, 5 heures, 24 heures, 36 heures, 48 heures, 3 jours après les inoculations. — 2 lapins témoins ont été également inoculés avec 4 cc. de la même émulsion de B. K. bovins virulents dans le péritoine.

Chez les 2 lapins témoins, nous avons observé les stades habituels de la bactériopexie du B. K. Polynucléose initiale, suivie dans les stades ultérieurs d'une réaction des « cellules mononucléaires » et plus tard, formation de cellules géantes et fixation du processus sur le péritoine. (Mais il faut noter que les réactions cellulaires sont beaucoup moins importantes chez le lapin que chez le cobaye vis à vis des B. K. bovins. Les lapins d'ailleurs sont beaucoup plus résistants à la tuberculose que les cobayes. *Y a-t-il entre les deux faits une corrélation* ?). Chez les lapins ayant subi préalablement la dérivation nous n'avons observé après inoculation des B. K. dans le péritoine, *aucune réaction cellulaire, ou une réaction minime* : Le contraste entre les réactions des témoins et celles des animaux ayant subi la dérivation était saisissant, et la *dérivation leucocytaire était ainsi prise sur le vif.*

Nous pouvons donc, d'après tous ces faits, donner avec Ch. MADELAINE des inoculations de dérivation la définition suivante : « Ce sont des injections *intra-veineuses* « de substances étrangères faites dans des conditions

« telles (qualité, quantité) qu'elles *permettent de retenir « les globules blancs à l'intérieur des vaisseaux*, alors « qu'un point d'appel extérieur exerce sur eux une « attraction positive (Ch. MADELAINE). »

Les recherches de MADELAINE et sa conception de la dérivation leucocytaire ont précisé les rôles respectifs des polynucléaires et des cellules mononucléaires dans la tuberculose, elles ont apporté une notion extrêmement féconde et susceptible de nombreuses applications : *les abcès de fixation*, certaines suppurations anciennement dites louables ont peut-être un effet heureux dans certains cas, parce qu'il est possible qu'ils entraînent une dérivation des polynucléaires. Toutefois, il ne s'agit pas dans ces cas d'une dérivation correspondant à la définition de MADELAINE.

En effet, pour qu'il y ait *dérivation vraie* comme l'a définie MADELAINE, il faut inoculer des substances étrangères par voie intra veineuse pour retenir les globules blancs à l'intérieur des vaisseaux alors qu'une inoculation faite par une autre voie exerce une attraction leucocytaire positive, et crée un point d'appel extérieur.

Expériences personnelles (inédites). — On pouvait se demander si l'inoculation d'une substance créant un abcès de fixation (essence de térébenthine) n'exerçait pas des modifications sur l'évolution d'une tuberculose expérimentale. Dans cet abcès de fixation, des polynucléaires sont attirés en masse au foyer de l'abcès (afflux hyperdiapédétique). Si on inocule, quelque temps après la formation de l'abcès, des B. K. par voie sous-cutané *en un autre point*, il y a malgré tout un afflux des poly-

nucléaire au niveau de l'inoculation des bacilles, et ce nouvel afflux des polynucléaires *n'est donc que peu entravé dans la tuberculose du fait de l'abcès de fixation.* On ne doit jamais oublier d'ailleurs que la chimiotaxie positive exercée par les B. K. vis à vis des polynucléaires *est très forte.*

Nous avons inoculé avec R. F. Le Guyon, en juillet 1930, 10 cobayes avec 1 cc. d'essence de térébenthine sous la peau de la cuisse. Au stade de formation de l'abcès, nous avons inoculé par voie sous-cutanée au niveau de l'abdomen, un cc. d'une émulsion au centième de milligramme de B. K. bovins souche Vallée virulents.

Les cobayes porteurs d'abcès n'ont pas présenté, en moyenne, de survie notable par rapport aux témoins.

Vers la même époque Delore (de Lyon) (105) a essayé de son côté d'appliquer la méthode de la dérivation leucocytaire au traitement de certaines formes de tuberculose, en pratiquant des abcès de fixation. Mais ces abcès, nous venons de le voir, n'assurent qu'une dérivation leucocytaire imparfaite, qui ne mérite même pas le nom de dérivation vraie.

Si dans des tuberculoses aiguës ou subaiguës, Delore n'a obtenu aucun résultat appréciable, il a observé dans les formes chroniques une diminution passagère de l'expectoration. L'auteur conseille d'essayer l'action dérivative des abcès de fixation au début des poussées congestives, évolutives. Dans quelques cas Delore a constaté qu'une localisation suppurée métastatique

(105) J. Delore, *Dérivation leucocytaire et Tuberculose* (*Journal de Médecine de Lyon*, 20 avril 1930).

extrapulmonaire, au cours de la tuberculose pulmonaire chronique a paru avoir une heureuse influence sur les lésions. En réalité, l'auteur n'a pas pratiqué une véritable dérivation, et les résultats médiocres qu'il a obtenus s'expliquent fort bien.

Le domaine de la thérapeutique par la dérivation leucocytaire « demeure en somme tout entier à explorer ». Le *moment* où l'on pratiquera la dérivation et *surtout le choix de la méthode de dérivation* influeront assurément beaucoup sur les résultats qu'on obtiendra. *La chimiotaxie positive exercée par l'injection dérivante sur les polynucléaires devra être plus forte que celle exercée par les B. K.*

Tentatives de modification des stades initiaux de la bactériopexie des bacilles de Koch par des méthodes autres que la méthode de dérivation (*Expériences personnelles*).

La technique de dérivation de Madelaine étant connue, nous avons cherché à entraver la réaction polynucléaire dans la tuberculose et à modifier les stades initiaux de la bactériopexie des bacilles de Koch, par des moyens autres que ceux employés par cet auteur.

Nous avons d'abord essayé, nous inspirant des anciennes expériences de Massart et Bordet (106) et de Vaillard et Vincent (107) d'entraver l'englobement

(106) J. Massart et Ch. Bordet, *Le chimiotaxisme des leucocytes et l'infection microbienne* (*Ann. de l'Inst. Past.*, t. V, juillet 1891, p. 418).

(107) L. Vaillard et H. Vincent, *Contribution à l'étude du tétanos* (*Ann. de l'Inst. Past.*, t. V, janvier 1891, p. 1, et suivantes).

des bacilles de Koch par les polynucléaires aux stades initiaux en inoculant dans le péritoine du cobaye un mélange d'émulsions de bacilles de Koch virulents et d'émulsion d'autres microorganismes (M. Prodigiosus, Staphylocoques, etc.) susceptibles d'exercer une action chimiotaxique positive considérable sur les polynucléaires et d'absorber ainsi complètement leur activité, de même que dans les anciennes expériences de Vaillard et Vincent dans le cas d'inoculations simultanées de spores tétaniques et de M. Prodigiosus, les polynucléaires ne semblaient englober que les M. Prodigiosus, laissant les spores tétaniques libres, ce qui leur permettait de germer (interprétation de Vaillard et Vincent : *les leucocytes vont à ce qui les attire le plus*).

Mais en ce qui concerne le bacille de Koch, l'action chimiotaxique positive exercée par ce microorganisme vis-à-vis des polynucléaires est si forte, qu'il est absolument impossible ainsi que nous l'avons constaté dans nos expériences, de modifier de quelque manière que ce soit, par les injections *simultanées* de B. K. et d'autres agents microbiens pratiquées *en un même lieu* de l'organisme, les stades initiaux de la bactériopexie des bacilles de Koch.

Devant ces résultats négatifs, nous avons employé une méthode se rapprochant dans une certaine mesure de la méthode de Ch. Madelaine : toute inoculation microbienne, sous-cutanée ou intrapéritonéale est suivie on le sait, d'un afflux polynucléaire précoce, auquel fait suite au bout de 24 à 48 heures, les polynucléaires disparaissant soit par destruction ou par englobement par les macrophages, soit du fait de leur retour dans

la circulation, un afflux ou une prolifération de cellules mononucléaires macrophages créant des formations plus ou moins spécifiques selon les cas. Nous avons donc pratiqué dans le péritoine de plusieurs cobayes sains des inoculations, chez les uns d'une émulsion de M. Prodigiosus, chez les autres, d'une émulsion de staphylocoques tués par la chaleur. Nous avons fait ensuite des prélèvements successifs de sérosité péritonéale. Vers le 2° ou 3° jour, nous avons constaté une histiocytose péritonéale marquée (fig. VI). A ce stade, nous avons inoculé 1 cc. d'une émulsion opalescente de B. K. bovins virulents. A l'examen des stades successifs de la bactériopexie du B. K., il nous a semblé *que l'englobement des B. K. par les cellules mononucléaires était beaucoup plus précoce*, et la *réaction polynucléaire moins marquée*. Ces expériences demandent toutefois des vérifications ultérieures et doivent être poursuivies. Il conviendrait en particulier de rechercher l'influence de tels processus sur l'évolution ultérieure de la tuberculose, en comparaison avec l'évolution de la bacillose chez les animaux témoins.

Il ressort de tous les faits précédents, des recherches de Madelaine et des nôtres, que s'il est de nombreuses infections susceptibles de modifier la résistance d'un sujet à la tuberculose, il en est peu, lorsque leur début coïncide avec celui de l'infection tuberculeuse et lorsqu'elles ont la même localisation, qui soient susceptibles de modifier les réactions cellulaires initiales du sujet tuberculisé. *Si au contraire, une infection par d'autres microbes, ou par des B. K. virulents, ou avirulents précède d'un délai donné une nouvelle infection*

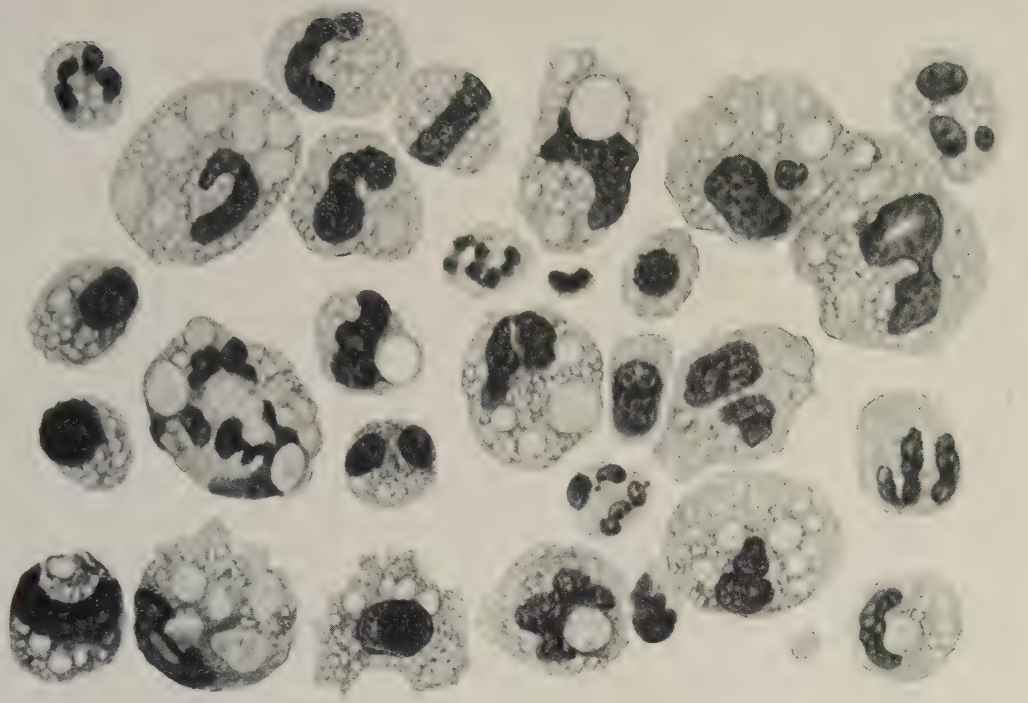

FIG. VI

Stade d'Histiocytose (Macrophages), consécutif à l'injection intrapéritonéale chez le cobaye de M. Prodigiosus. (*Les M. Prodigiosus ne sont pas figurés sur la préparation*).

(Ce stade a suivi un stade initial de polynucléose).

par le B. K., (ex : bovo-vaccination de von BEHRING) ou une réinfection endogène la réaction *cellulaire du sujet aux bacilles de* KOCH *virulents pourra être modifiée* : les anciens auteurs avaient bien remarqué par exemple, les formes particulières de tuberculoses fibreuses ou torpides que l'on constaterait relativement souvent chez d'anciens syphilitiques ou chez des hérédosyphilitiques (scrofulate de vérole !). On a signalé d'autre part (MARCOU-MUTZNER), la fréquence relative des formes fibreuses de la tuberculose chez les paludiques : les associations morbides modifient le terrain, ce qui revient à dire *qu'il y a, du fait de ces associations, modification des réactions cellulaires de l'individu vis-à-vis de certaines infections chroniques.*

L'influence de certains processus infectieux associés sur les modalités des réactions cellulaires d'un organisme aux bacilles de KOCH semble donc dans certains cas réelle.

Dans un tout autre ordre d'idées, nous avons cherché en collaboration avec R. F. LE GUYON, à modifier les étapes initiales de la bactériopexie du B. K. non plus par des agents infectieux mais par des agents chimiques (108).

INFLUENCE DE L'ACIDE LACTIQUE ET DE L'OPIUM SUR LA BACTÉRIOPEXIE DU B. K.
(*Expériences personnelles avec* R. F. LE GUYON.)

Les travaux de : ARLOING, CORNEVIN et THOMAS (109),

(108) J. ALBERT WEIL et R. F. LE GUYON, *C. R. Soc. Biol.*, t. CVI, nº 3, 1931, 30 janvier (*Soc. de Biol. de Strasbourg*, p. 240.

(109) ARLOING, CORNEVIN et THOMAS, *Le charbon symptomatique du bœuf*, 1891, p, 165 et *C. R. de l'Acad. des sc.*, 29 novembre 1886.

DE NOCARD et ROUX (110) ont montré que l'acide lactique exalte la virulence de certains microbes. On croyait après les expériences de VAILLARD et VINCENT (111) et de MASSART et BORDET (112), que ce fait était dû à une véritable action répulsive exercée par cet acide vis-à-vis des leucocytes, action empêchant la phagocytose.

Nous basant sur cette interprétation, nous avons voulu voir d'abord si les injections intra-veineuses d'acide lactique à diverses concentrations modifiaient le taux des leucocytes dans le sang et la formule leucocytaire du lapin. Après de nombreuses numérations à la cellule de THOMAS et des examens de frottis de sang au Giemsa, pratiqués un quart d'heure, une heure, deux heures, 24 heures, etc., après, nous n'avons constaté aucun changement.

Nous nous sommes ensuite demandé quelle serait l'influence de l'acide lactique sur les premiers stades de la bactériopexie des bacilles de KOCH. Dans ce but nous avons inoculé trois lots de cobayes par voie intrapéritonéale. Le premier lot d'animaux a reçu 1 cc. d'un mélange d'une émulsion opalescente de bacilles de KOCH bovins virulents souche VALLÉE, et d'acide lactique, la concentration en acide lactique du mélange étant de 1 pour 500. Le deuxième lot de cobayes fut inoculé avec un mélange analogue mais la concentration de l'acide lactique était de 1 %. Un troisième lot enfin fut inoculé avec un même mélange, dont la concentration d'acide lactique était de 1 pour 20. Les trois

(110) NOCARD et ROUX, *Ann. de l'Inst. Past.*, 1891, t. V, p. 257
(111 et 112) Voir notes 106 et 107.

lots comprenaient d'une part des cobayes sains, d'autre part des cobayes tuberculeux, tuberculisés soit depuis 30 jours, par une émulsion au centième de milligramme de B. K. bovins virulents souche Vallée, soit par des produits pathologiques depuis 3 à 12 mois.

Contrairement à notre attente, l'afflux leucocytaire et les différentes phases de la leucotaxie étudiées 5, 24 et 48 heures après n'ont été en rien troublées surtout en ce qui concerne les deux premiers lots de cobayes. Bien au contraire, surtout chez le premier lot de cobaye (acide lactique à 1 pour 500) il nous a semblé que, tant chez les cobayes de première infection que chez les cobayes tuberculeux réinoculés, l'afflux des polynucléaires se montrait plus considérable et plus précoce que chez les cobayes simplement inoculés de B. K. sans adjonction d'acide lactique. L'activité des macrophages se révélait aussi intense et précoce. Chez les cobayes du troisième lot (acide lactique à 1 pour 20) l'afflux polynucléaire initial a peut être été légèrement diminué.

L'acide lactique s'étant montré en somme inopérant aux concentrations auxquelles nous l'avons employé, nous avons pensé utiliser l'action bien connue de l'opium et de ses dérivés en vue de paralyser les leucocytes et les éléments cellulaires. Nous avons refait les mêmes expériences sur des cobayes sains en remplaçant l'acide lactique par le pantopon.

Dans une première série d'expériences, des cobayes recevaient par voie intrapéritonéale simultanément 2 ampoules de pantopon de 1 cc. à 2 centigrammes par centimètre cube, et 2 cc. d'une émulsion opalescente

de bacilles de Koch bovins virulents, souche Vallée. Dans une deuxième série d'expériences, des cobayes recevaient d'abord par voie intrapéritonéale 2 ampoules de pantopon, puis, une heure plus tard, par la même voie, 2 cc. de pantopon et 2 cc. d'une émulsion bacillaire virulente. On renouvelait la même dose de pantopon deux fois encore, à 1 heure d'intervalle. Les animaux avaient donc reçu la dose totale de 16 centigrammes de pantopon. A la suite de ces injections, les animaux, surtout ceux de la deuxième série, étaient pris de dyspnée, de tremblement, de raideur musculaire, ils élargissaient leur base de sustentation, et fléchissaient entièrement sur leur train postérieur. Ces troubles n'étaient que passagers. Chez tous ces animaux, les stades successifs de la bactériopexie du bacille de Koch et les réactions cellulaires, observées heure par heure pendant les cinq premières heures, et ensuite 12, 24, 48 et 72 heures après les inoculations, étaient identiques à ceux présentés par les cobayes témoins inoculés avec des bacilles de Koch.

Il ressort de ces expériences qu'en présence du bacille tuberculeux, l'acide lactique aux concentrations employées n'exerce pas d'action répulsive sur les leucocytes. L'opium, qui classiquement a la propriété de paralyser les leucocytes, se montre également impuissant vis à vis des éléments cellulaires, en présence du bacille de Koch.

Tous ces faits montrent *combien puissante est la chimiotaxie leucocytaire positive exercée par le bacille tuberculeux.*

Conclusion. — Il ressort de toutes les notions que nous avons acquises, au cours de cette longue étude des réactions cellulaires dans la tuberculose, que la succession des réactions polynucléaires d'abord, monocytaires et histiocytaires ensuite, constitue un fait très général et relativement fixe dans ses modalités. Il y a toutefois des différences très importantes dans l'histophysiologie des polynucléaires d'une part, des monocytes et des histiocytes d'autre part. La pexie circulante polynucléaire n'est pas du même ordre que la pexie fixée exercée par les histiocytes. Les histiocytes, éléments mésenchymateux possèdent non seulement un pouvoir phagocytaire, mais encore un pouvoir de colloïdopexie décelé par la propriété qu'ils présentent de se colorer par les colorants acides colloïdaux dits supravitaux et de floculer ces colorants (Bratianu et Guerriero (113). Les polynucléaires ne semblent avoir aucun pouvoir de colloïdopexie.

La phagocytose polynucléaire est immédiate et rapide, la phagocytose par les cellules mononucléaires macrophage est plus lente à se déclancher, la première est un processus réactionnel général, la seconde est le fait d'une réaction locale. L'évolution des tuberculoses est régie par des processus de pexie cellulaire généraux et locaux, son pronostic dépend non seulement du nombre et de la virulence des bacilles infectants, mais encore de l'ordre dans lequel se succèdent les réactions polynucléaires et macrophagiques, qui constituent des phénomènes corollaires à l'arrivée des bacilles, de l'in-

(113) Voir note 101 p. 135.

tensité et de la durée respectives de l'une et l'autre de ces réactions, de la prédominance de l'une sur l'autre, et de l'influence que l'apparition de l'une peut avoir sur le mécanisme de l'autre. Un des actes thérapeutiques les plus judicieux sera de tenter de lutter contre les réactions polynucléaires, et de favoriser les réactions histiocytaires. *Cette action nous ramène par une voie détournée au principe des anciennes thérapeutiques anti phlogistiques dont le but était de combattre les excès des inflammations.* On conçoit donc que l'immobilisation d'un foyer tuberculeux puisse produire d'heureux effets. Notons par ailleurs que tout médicament ou tout extrait bactérien entraînant chez l'animal une réaction monocytaire et histiocytaire précoces sera présumé avoir un effet favorable sur l'évolution des tuberculoses (114).

***

Les études qui ont fait l'objet de la deuxième partie de cet ouvrage, nous ont permis de donner des précisions importantes touchant d'une part les réactions antigènes anticorps en général, d'autre part les réactions cellulaires dans la tuberculose.

Il nous faut maintenant tenter d'appliquer les notions qui ont été ainsi mises en évidence à l'étude des actions

(114) Nous avons montré par injection intrapéritonéale d'antigène méthylique à des cobayes sains et à des cobayes tuberculeux :

1° La plus grande réactivité cellulaire des cobayes tuberculeux à l'antigène méthylique ;

2° La réaction précoce des cellules mononucléaires, réaction donc favorable en principe. Voir 3e partie, p. 207.

Jean Albert-Weil et R. F. Le Guyon, *C. R. Soc. Biol.*, t. CV, p. 981, *Société de Biol.* de Strasbourg, séance du 12 décembre 1930.

biologiques des fractions isolées à partir du B. K. Il découle tout naturellement de tous les faits que nous avons précédemment exposés qu'il convient d'étudier l'action biologique de ces fractions d'après les points de vue suivants :

1° *Au point de vue de leur toxicité locale* vis-à-vis des éléments cellulaires *et générale* vis-à-vis de l'organisme tout entier ;

2° *Au point de vue de leur chimiotaxie cellulaire et des modalités de cette chimiotaxie*, c'est-à-dire en ce qui concerne leur pouvoir provocateur des réactions polynucléaires et histiocytaires locales, et en ce qui a trait au rôle qu'elles sont susceptibles de jouer dans la formation des lésions histopathologiques, spécifiques ou non spécifiques ;

3° *Au point de vue de leur antigénie provocatrice* en recherchant si elles provoquent la formation d'anticorps chez l'animal et quelle est la nature de ces anticorps ;

4° *Au point de vue de leur antigénie réceptrice* en étudiant si elles occasionnent des réactions et quelles sont ces réactions quand elles sont mises au contact, *in vivo* ou *in vitro*, d'anticorps préformés (par exemple cutiréaction chez les animaux tuberculeux, réaction de précipitation lorsqu'elles sont mises en présence *in vitro* d'un sérum précipitant etc.) ;

5° *Au point de vue de leur influence favorable ou défavorable sur l'évolution des lésions tuberculeuses.*

TROISIÈME PARTIE

ACTION BIOLOGIQUE DES FRACTIONS EXTRAITES DU BACILLE DE KOCH

TROISIÈME PARTIE

ACTION BIOLOGIQUE DES FRACTIONS EXTRAITES DU BACILLE DE KOCH

AVANT-PROPOS

Toutes les fractions, qui ont été extraites jusqu'à ce jour par les différents auteurs, n'ont pas été éprouvées chez l'animal. Il est évident que tous ces produits provenant du fractionnement des corps bacillaires ne peuvent avoir des propriétés strictement comparables à celles des bacilles entiers et vivants. Toutefois les recherches de Koch, de Mafucci, de Prudden, de Straus et Gamaleia ont montré que les bacilles tuberculeux stérilisés à 100° conservent une partie de leurs propriétés pathogènes : inoculés sous la peau, ils déterminent la suppuration avec ou sans phénomènes de cachexie ; inoculés dans le péritoine et surtout dans les veines, ils déterminent partout où ils ont été apportés des réactions comparables à celles que déterminent les bacilles vivants, de véritables tubercules. Krompecher a montré que l'action des bacilles morts variait selon la virulence qu'avait antérieurement le bacille

vivant. Un bacille très virulent, capable de tuer le cobaye et le lapin, provoque, malgré le chauffage à 120°, chez les animaux, cobaye et lapin, dès le troisième jour un abcès qui disparait au bout de une à deux semaines (F. Bezançon).

Tous ces faits justifient le grand intérêt de toutes les recherches qui ont été faites par les différents auteurs touchant les actions physiopathologiques et histopathologiques des fractions extraites du bacille de Koch. Il est important en effet de tenter de déterminer avec précision le rôle respectif des divers éléments ou fractions du B. K. dans la genèse, et l'évolution des réactions cellulaires et humorales de la tuberculose, et aussi leur influence sur l'évolution des tuberculoses déjà constituées.

On a étudié, comme il était naturel, d'une part les fractions lipoïdiques, lipoïdo-graisseuses, polysaccharides, d'autre part les fractions protéiques, ces dernières fractions comprenant non seulement les éléments protéiques des corps bacillaires, mais encore les substances diffusibles présumées exomicrobiennes douées des propriétés tuberculiniques.

Nous n'aborderons pas dans le cours de ce travail, la question de ce qu'on est convenu d'appeler les formes filtrantes du bacille de Koch. Nous avons montré (voir première partie, p. 66) qu'il existait des fractions protéiques du B. K. qui étaient ultrafiltrables et qui conservaient leurs propriétés tuberculiniques après ultrafiltration. Il est fort possible que des fractions ultrafiltrables du B. K. soient capables de provoquer chez l'animal certaines lésions histologiques (hypertrophies

ganglionnaires dues peut-être à la tuberculine, etc.) et des phénomènes d'intoxication générale ; c'est la conclusion qui semble découler des expériences de Sanarelli et Alessandrini (115). Mais les recherches poursuivies jusqu'à présent portant sur les formes filtrantes du B. K. ne permettent pas encore de mettre en doute l'axiome suivant à savoir « qu'il n'y a vraiment maladie tuberculeuse *constituée* que lorsque l'on trouve ou lorsqu'il y a eu des *bacilles de* Koch *au niveau des lésions* ». Les formes filtrantes, *si formes filtrantes il y a*, ne deviennent vraiment tuberculigènes que lorsqu'elles ont après des passages successifs à l'animal, *repris la forme bacillaire acido-résistante.*

(115) Ces auteurs introduisent dans le péritoine de cobayes des cultures virulentes de B. K. incluses dans des sacs de collodion. Les cobayes meurent au bout d'un ou plusieurs mois dans la cachexie. La séreuse péritonéale présente des réactions purement inflammatoires, des formations granulomateuses avec présence de cellules géantes et de cellules épithélioïdes. Pas de véritables follicules ou tubercules. *Ces lésions peuvent être produites par des substances diffusant du bacille et du milieu de culture et ultrafiltrables.* Toutefois les organes broyés des animaux ayant succombé donnent naissance lorsqu'ils sont inoculés à des cobayes sains à des lésions tuberculeuses typiques avec présence de B. K. acido-résistants. Les causes d'erreur dans de telles expériences semblent toujours possibles.

G. Sanarelli et A. Alessandrini, *Démonstration in vivo de l'ultravirus tuberculeux* (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. CIV, p. 1241, et *C. R. Soc. Biol.*, 1931. t. CVI, p. 426).

CHAPITRE PREMIER

ACTION HISTOPATHOLOGIQUE DES FRACTIONS LIPOIDIQUES DU BACILLE DE KOCH

Pour éviter toute confusion dans l'esprit du lecteur, nous insisterons surtout sur les travaux des auteurs modernes qui ont pu par des techniques plus perfectionnées et plus précises pousser plus loin que leurs prédécesseurs l'isolement des diverses fractions du B. K.

Weyl (116) le premier a utilisé les extraits chimiques du B. K. pour étudier leur action biologique.

Dans la première partie de cet ouvrage nous avons rendu compte des belles recherches d'Auclair et Paris, concernant le fractionnement du B. K.

***

Action histopathologique des lipoides du B. K. d'après Auclair et Paris

Ces auteurs, on s'en souvient, avaient distingué des poisons diffusibles et des poisons adhérents, ces der-

(116) Weyl Th., *Deutsch. Med. Woch.*, 1891, t. XVII, p. 256.

niers étant les fractions des constituants du B. K. se montrant réfractaires à tout mélange avec l'eau ou les liquides de l'organisme. Ce sont essentiellement les constituants adipo-cireux du bacille. Ayant traité des bacilles tantôt par l'éther et tantôt par le chloroforme Auclair et Paris avaient extrait des complexes de matières adipo-cireuses qui différaient dans une certaine mesure de composition selon le solvant employé. Ils appelèrent éthéro-bacilline les substances adipo-cireuses qui se dissolvent dans l'éther, et chloroformo-bacilline les substances adipo-cireuses qui se dissolvent dans le chloroforme.

D'après leurs constatations expérimentales chez l'animal, l'éthéro-bacilline et la chloroformo-bacilline seraient des poisons locaux, c'est-à-dire des produits toxiques incapables d'exercer leur action en dehors de la zone où ils sont introduits artificiellement ou importés par le B. K.

A l'injection de l'éthéro-bacilline sous la peau succède d'après Auclair une réaction inflammatoire violente se terminant par un abcès caséeux. A l'instillation du même produit dans la trachée fait suite une pneumonie intense accompagnée d'une caséification plus ou moins accentuée du poumon. Quant aux effets de la chloroformo-bacilline, ils se manifestent : à la peau par une eschare qui fait place à une cicatrice épaisse, au poumon par un état inflammatoire se rapprochant singulièrement de la pneumonie tuberculeuse de l'homme.

Dans certains cas, les réactions inflammatoires que provoquent l'éthero-bacilline et la chloroformo-bacilline

s'accompagnent de la transformation tuberculeuse des tissus tendant soit à la caséification, soit à la sclérose suivant le produit mis en jeu (ces produits provoquent donc à la fois des réactions spécifiques et des réactions non spécifiques). Divers expérimentateurs employant autrefois l'éthéro-bacilline ou la chloroformo-bacilline ont obtenu des résultats paraissant confirmer le pouvoir caséifiant de l'éthéro-bacilline, les propriétés sclérosantes de la chloroformo-bacilline et le pouvoir tuberculisant de l'un et de l'autre extrait. On doit rappeler à ce sujet les expériences d'OPPENHEIM et LOEPER sur les glandes surrénales, de BERNARD et SALOMON sur le rein, d'ARMAND-DELILLE sur les centres nerveux, de COURCOUX et RIBADEAU-DUMAS sur le foie (117). D'autre part, DARIER et ROUSSY auraient reproduit avec la chloroformo-bacilline des tumeurs sarcoïdes semblables à certaines lésions tuberculeuses de la peau humaine.

Nous avons synthétisé dans la première partie de cet ouvrage en deux tableaux (voir tableau 6, p. 33 et tableau 10, p. 47) les substances diverses que, d'après les résultats obtenus d'une part par GORIS, d'autre part par R. J. ANDERSON, on est susceptible d'extraire des bacilles de KOCH par l'éther d'une part, le chloroforme d'autre part; (ces tableaux sont évidemment un peu approximatifs puisque, nous l'avons vu, les méthodes d'extraction diffèrent suivant les auteurs et que de plus les uns ont travaillé sur des bacilles de KOCH

(117) Ces auteurs sont cités par H. DOMINICI et E. OSTROWSKI, *Recherches sur les poisons du bacille de la tuberculose*, Masson et C^ie^ éditeurs, 1914.

vivants ayant poussé sur bouillon glycériné, les autres sur des bacilles de Koch morts ayant servi à préparer la tuberculine ancienne, d'autres enfin sur des bacilles vivants ayant poussé sur milieu synthétique).

On voit que la différence de constitution entre les extraits chloroformiques et éthérés du B. K. sont légères, de telle sorte qu'il est *a priori* assez étonnant de pouvoir attribuer des propriétés surtout caséifiantes à l'éthérobacilline, et surtout sclérosantes à la chloroformo-bacilline. Ces extraits d'ailleurs qui varient d'après les souches bacillaires dont ils dérivent, n'ont pas une composition fixe : de nombreux facteurs interviennent : temps d'extraction, etc. On s'explique que la différence d'action de l'un ou de l'autre extrait n'ait pas été nettement confirmée.

Quoi qu'il en soit, la théorie d'Auclair peut être résumée dans les quatre propositions suivantes :

1° Les graisses et les cires du bacille de Koch sont douées de propriétés tuberculisantes, caséifiantes, sclérosantes ;

2° Les produits autres que les éléments adipo-cireux sont dépourvus de ces propriétés ;

3° La tuberculisation, la caséification, la sclérose sont localisées au siège des produits adipo-cireux ou à ses entours ;

4° L'influence du terrain dans la détermination des lésions provoquées par ces poisons est contingente.

Les expériences pratiquées avant la guerre par Dominici et Ostrowski (118) avaient semblé montrer que

(118) Dominici H. et Ostrowski E., *Recherches sur les poisons*

l'injection sous la peau des cobayes de poisons d'origine bacillaire, *indemnes de toutes traces de cire et de graisse*, tarent de lésions tuberculeuses, scléreuses et caséeuses les parties les plus diverses du corps de ces animaux. Dominici et Ostrowski avaient tiré des faits qu'ils avaient observés les conclusions suivantes ; « nos « constatations, disaient-ils, ne retirent pas nécessaire- « ment aux graisses et aux cires le pouvoir de provo- « quer la tuberculisation, la sclérose, la caséification, « mais ils infirment la théorie d'Auclair suivant deux « de ses principes :

« 1° Celui qui attribue aux seuls produits adipo- « cireux la métaplasie, la sclérose, et la caséification :

2° Celui qui localise ces altérations des tissus à la « zone infiltrée de graisse et de cire.

« Les phénomènes morbides en question ne sont pas « les seules modifications histologiques causées par le « B. K. dont les effets irritants et altérants se mani- « festent encore par des réactions (*non spécifiques*) « fluxionnaires, phagocytaires, hyperplasiques, évo- « lutives ou par des phénomènes de dégénérescence « dont les plus graves aboutissent à la nécrose des tissus. »

Il est difficile de dire si les affirmations de Dominici et d'Ostrowski sont entièrement fondées ; il ne semble peut-être pas en effet qu'Ostrowski dans la préparation du produit avec lequel il a expérimenté et qu'il nomme nécro-tuberculine ait extrait et éliminé *toutes* les subs-

du bacille de la tuberculose (Travail des Laboratoires de M. Metchnikoff à l'Institut Pasteur et du Dr H. Dominici à l'Hôpital Henri de Rothschild). Masson et Cie, éditeurs, 1914.

tances grasses et lipoïdiques du B. K. (119). Nous verrons d'ailleurs que les auteurs américains utilisant des produits plus nettement définis sont arrivés à des résultats plus précis.

Il se peut d'autre part que les lésions de sclérose qui peuvent être engendrées par les extraits éthérés et surtout chloroformiques du bacille de KOCH soient dues seulement à une action lipoïdique non spécifique, ainsi que semblerait le faire croire une expérience bien connue de H. CLAUDE.

H. CLAUDE (120) a inoculé des bacilles tuberculeux à un groupe de cobayes, qu'il a divisés ensuite en deux parties : l'une représentait les animaux témoins, l'autre

(119) La nécro-tuberculine d'OSTROWSKI était préparée de la façon suivante : 1 kilogramme de bacilles morts ayant déjà servi à la préparation de la tuberculine de l'Institut Pasteur et débarrassée du papier Chardin qui entoure les gâteaux pressés est introduit dans un ballon de verre de deux litres à fond rond, avec un litre d'éther sulfurique pur.

On laisse macérer les bacilles dans l'éther pendant 24 heures en agitant de temps en temps afin qu'il ne reste pas de grumeaux (émulsion homogène). On place alors le ballon au bain-marie à 42° afin d'évaporer l'éther ; les bacilles se figent en une masse compacte, adhérente au verre. On ajoute petit à petit de l'eau distillée stérilisée jusqu'à faire un litre et demi de décoction qu'on laisse au bain-marie à l'ébullition pendant 10 jours. Pendant ce délai, on retire de temps en temps un demi-litre de liquide que l'on évaporera à part, en ajoutant chaque fois de l'eau distillée à la décoction mère.

On fait ainsi passer, en 10 jours, une dizaine de litres d'eau distillée qui entraînent par lixiviation toutes les substances solubles du bacille. Le liquide concentré, réduit à 800 cc. environ et marquant à l'aréomètre Beaumé 1,008 à 1,012, est filtré sur double papier buvard, dégrossi sur le filtre Berkfeld et terminé par filtration à la bougie FF ou L³ Chamberland.

L'endotoxine est alors distribuée dans des tubes qui sont conservés, scellés à la lampe.

(120) H. CLAUDE, *Revue de la tuberculose*, déc. 1901 ; *Bulletin médical*, janvier 1902.

ceux qu'il allait injecter avec de la lécithine. Les témoins mourraient les premiers avec des lésions classiques de tuberculose ; les animaux traités vivaient plus longtemps, les réactions tuberculeuses de leurs tissus accusaient une sclérogénèse manifeste. L'auteur a tiré de cette expérience la conclusion suivante : à savoir, que la théorie de l'origine toxique de la sclérose tuberculeuse est ici en défaut ; cette dernière étant due d'après H. CLAUDE à ce fait que les tissus rendus plus résistants ont réagi par la formation de tissus fibreux au lieu d'aboutir à la caséification. Mais P. RADIGUET (121) fait à cette interprétation les objections suivantes : « Que la lécithine exalte chez « l'animal son pouvoir de résister à l'infection tuber- « culeuse, nous n'avons aucune raison particulière « de ne pas accepter cette affirmation, mais nous « ne voyons pas au nom de quel principe ces résultats « peuvent infirmer la théorie de l'origine toxique de « la sclérose tuberculeuse mise en avant par Jules « AUCLAIR. Il est tout aussi légitime de *penser que la* « *lécithine a créé chez les animaux traités un terrain favo-* « *rable à la sécrétion par les bacilles tuberculeux du poison* « *sclérosant*, que de supposer qu'elle leur a donné une « résistance qui les incite à réagir par la formation de « tissu fibreux, lequel *n'a même pas la propriété de* « *les débarrasser de l'ennemi envahisseur* (P. RADIGUET). »

Nous venons de voir quelles étaient, d'après AUCLAIR, les lésions *locales* produites chez les cobayes sains par

(121) P. RADIGUET, *Rôle des toxines tuberculeuses locales dans les processus uberculeux.* Thèse de Paris.

les substances extraites du B. K. au moyen de l'éther et du chloroforme. Etudions maintenant quels sont d'après le même auteur leurs effets généraux :

D'après AUCLAIR l'extrait éthéré, inoculé au cobaye sain, a peu de toxicité générale ; même à dose élevée, il n'amène la mort de l'animal que *longtemps* après l'inoculation ; les lésions constatées à l'autopsie se réduisent à de la congestion du poumon.

Chez le cobaye tuberculeux, l'extrait éthéré ne paraît avoir aucune influence sur l'évolution de la maladie.

En injection préventive, il ne produit aucune immunité contre la tuberculose humaine.

De même l'extrait chloroformé est peu toxique pour le cobaye sain ; il n'a aucune influence sur l'évolution de la maladie chez le cobaye tuberculeux ; en injection préventive, il n'a aucune action immunisante.

L'étude des premiers stades de la chimiotaxie cellulaire suivant l'inoculation des extraits lipoïdiques bacillaires d'AUCLAIR n'a pas été faite. L'étude de leur valeur antigène n'a pas été abordée.

Tels sont donc les résultats déjà fort importants obtenus dès 1905 par AUCLAIR et qui jusqu'à la période actuelle constituèrent les notions classiques touchant les effets physio et histopathologiques produits par les fractions lipoïdo-cireuses du B. K. chez les cobayes.

Les auteurs modernes, surtout les auteurs américains, poussant beaucoup plus loin l'analyse chimique ont permis de distinguer des actions particulières de fractions mieux individualisées et de mieux préciser le rapport existant entre les lésions générales et locales

produites et la structure chimique des substances employées pour les produire. Il ne nous a pas encore été possible d'entreprendre l'étude de l'action physiopathologique des fractions extraites du B. K. par la méthode de Goris, à partir de bacilles morts ayant servi à la préparation de la tuberculine ancienne à l'Institut Pasteur. Nous avons cependant décrit en détail cette méthode dont nous avons nous-même suivi la technique ; elle est en effet une des plus remarquables parmi celles qui ont permis de préciser la composition chimique des diverses fractions lipoïdiques du B. K. et même des extraits lipoïdiques isolés des bacilles par d'autres auteurs et dont l'action biologique avait déjà été étudiée.

Action histopathologique des lipoides du B. K. d'après les travaux des auteurs américains

Les auteurs américains tels que Florence R. Sabin, Charles A. Doan, Claude E. Forkner, etc. (122), ont par de remarquables recherches longtemps et studieusement poursuivies, étudié les actions histopathologiques sur le lapin normal des fractions isolées à partir du B. K. par R. J. Anderson en ce qui concerne les fractions lipoïdiques, et polysaccharides, par T. B. Johnson

(122) *a*) Florence R. Sabin, Charles A. Doan et Claude E. Forkner, *Studies on tuberculosis* (*The Journal of experimental Medicine*, supplément n° 3, t. LII, n° 6, 1er décembre 1930).

b) Florence R. Sabin, Franklin L. Miller, Charles A. Doan, Bruce K. Wiseman, *A study of the toxic properties of tuberculoproteins and polysaccharides* (*The Journal of experimental medicine*, t. LIII, n° 1, 1er janvier 1931, p. 51).

et R. D. Coghill en ce qui concerne les fractions protéiques. Nous avons rendu compte des travaux de ces derniers auteurs dans la première partie de cet ouvrage ; nous connaissons donc les dénominations sous lesquelles ils ont désigné les différentes fractions qu'ils ont isolées. Nous demandons au lecteur de bien vouloir se reporter à la première partie ou il trouvera les détails de leur mode de préparation.

On se rappelle que les lipoïdes du bacille tuberculeux souche H.37 ayant poussé sur milieu synthétique de Long ont été divisés par R. J. Anderson en quatre groupes dont deux, phosphatides et glycérides, sont extraits par dissolution dans l'alcool-éther, et deux cires purifiées (purified wax) et cires douces (soft wax), par dissolution dans le chloroforme (voir tableau 7, p. 37), *après extraction des produits solubles dans l'alcool-éther.*

Par ailleurs la phosphatide, la cire purifiée et la cire douce sont insolubles et les glycérides sont solubles dans l'acétone (voir tableau des solubilités n° 9, p. 46 et tableau 7, p. 37).

Les lipoïdes et leurs produits de fractionnement ont été administrés à des lapins à des doses moyennes de 2 à 20 milligrammes de produit selon les cas, et sous les formes suivantes :

Isolé : acide gras I, provenant de la phosphatide A^3 (voir tableau général des substances isolées par R. J. Anderson à partir du bacille tuberculeux (tableau 8, p. 45).

En émulsion dans l'eau, la phosphatide A_3.

En solution dans l'eau, les substances non spécifiques : acides oléique, palmitique, et glycérophosphorique.

Ou en solution dans une huile minérale : tous les acides gras saturés 1-5, l'acide tuberculo-stéarique, l'acide phtioïque, les cires, et la substance insaponifiable.

La plupart des inoculations furent faites par voie intrapéritonéale ; les lésions produites furent suivies et observées à des stades successifs suivant l'inoculation.

Les auteurs américains dans leur travail ont appelé lésions « *tuberculaires* » les lésions produites par les extraits chimiques du bacille de Koch et ressemblant aux lésions dites *tuberculeuses*, dénomination sous laquelle ils désignent les lésions produites par le bacille de Koch au cours de la maladie tuberculose.

Le terme tuberculaire indique que des lésions comprenant des tubercules, et plus spécialement des amas plus ou moins diffus ou compacts de cellules épithélioïdes se produisent dans des conditions pathologiques autres que celles créées par le bacille de Koch.

Ils considèrent comme des lésions tuberculaires caractéristiques les images histopathologiques comprenant des cellules épithélioïdes et des cellules géantes de type Langhans, que ces cellules épithélioïdes soient éparses dans un tissu tuberculaire de granulations ou qu'elles soient au contraire en amas compact, formant des follicules et des tubercules.

Ils appellent au contraire *lésions générales ou non spécifiques* toutes les autres réactions leucocytaires et tissulaires trouvées dans la tuberculose et reproduites par les fractions chimiques du bacille telles que l'afflux au niveau des tissus de polynucléaires venant du sang, l'augmentation des cellules conjonctives fixes

indifférenciées ou fibroblastes, la néoformation de vaisseaux sanguins, l'augmentation des lymphocytes dans le sang ou au niveau des tissus. Ils font entrer aussi dans ces lésions non spécifiques la formation de cellules géantes à corps étrangers, analogues à celles obtenues par l'apport de corps étrangers résistants dans les tissus, l'augmentation de la division cellulaire, *et l'augmentation de l'activité phagocytaire des clasmatocytes.*

Ici il convient d'ouvrir une parenthèse : les auteurs américains parlent sans cesse de clasmatocytes dans leur exposé. Il nous faut tenter de définir ici clairement cet élément, afin de permettre la claire compréhension de tout ce qui va suivre : nous donnerons d'abord la classification de A. Maximow (123) qui s'exprime comme suit : « Dispersées dans tout l'organisme, les « cellules errantes, dérivées, dans les premiers stades « de l'ontogénèse, du mésenchyme, subissent différentes « modifications et apparaissent sous des aspects divers : « une partie d'entre elles restent actives et mobiles « (les cellules errantes du tissu conjonctif). D'autres « sont transformées en éléments fixes, immobiles et « quiescents, mais gardent à l'état latent leur pouvoir « de mobilité. Dans cette dernière catégorie de cellules « mobiles à l'état potentiel, et amiboïdes, mais norma- « lement quiescentes entrent une série d'éléments, « décrits par des auteurs variés sous des noms « différents : ici nous avons d'abord les cellules

(123) Alexander A. Maximow, *Tuberculosis of mammalian tissue in vitro* (*The Journal of Infectious diseases. Chicago*, t. XXXIV, 1924, p. 582 et suivantes).

« errantes quiescentes de MAXIMOW (resting wandering « cells) ou les *clasmatocytes* de RANVIER dans le « tissu conjonctif lâche. En second lieu les cellules « adventitielles de MARCHAND, ou les cellules rhagio- « crines de RENAUT, identiques aux cellules errantes, « quiescentes de MAXIMOW dans le péritoine. En troi- « sième lieu, les cellules réticulaires et les cellules des « sinus dans les ganglions lymphatiques, la rate, et la « moelle des os. En quatrième lieu, les cellules de « KUPFFER dans le foie ; finalement peut-être aussi « les cellules de revêtement des capillaires sanguins « dans quelques autres organes, par exemple les surré- « nales. »

Sous l'influence de stimuli de diverses sortes, toutes ces cellules peuvent être mobilisées et sont alors transformées en cellules mobiles fonctionnant comme des Phagocytes actifs, *fixant les colorants vitaux et d'autres substances colloïdales variées*. C'est pour cette raison que MAXIMOW les a appelées « cellules errantes quiescentes ». Elles sont toutes douées de *possibilités* d'action et de transformation étonnamment multiples, et peuvent proliférer et se différencier en diverses autres formes. Aussi MAXIMOW les a-t-il appelées, lorsqu'elles sont actives et mobiles dans le champ d'une réaction inflammatoire : *polyblastes*. Ainsi donc, cellules errantes quiescentes, *clasmatocytes*, cellules adventitielles, cellules rhagiocrines, polyblastes, etc., représentent des éléments d'ordre identique. Elles ont encore reçu d'autres noms : cellules à pyrrol (GOLDMANN), histiocytes (KIYONO), et enfin *macrophages*, ainsi que les désigne, lorsqu'elles sont mobiles, EVANS, qui a repris

l'ancienne dénomination de METCHNIKOFF. Cette dernière dénomination est en somme la plus rationnelle, car elle indique la fonction principale de ces cellules qui est la macrophagie. Toutes les différences histologiques extrêmement fines que l'on a voulu établir entre ces diverses variétés nous paraissent ressortir d'un « byzantinisme histologique » des plus regrettables. L'histologiste et l'anatomopathologiste ne doivent pas seulement voir dans les réactions cellulaires des états fixes, ils doivent se souvenir aussi que ces réactions sont essentiellement mobiles et diverses, ce qui entraîne selon les moments d'observation des différences d'aspect. Il n'est pas rationnel de se baser uniquement sur des aspects particuliers, mais éminemment transitoires pour créer des entités histologiques nanties des noms les plus savants.

Ces cellules en somme sont toutes des cellules réticulo-endothéliales capables de macrophagie et de fixation des colorants vitaux. Elles correspondent en tous points aux éléments que nous avons nommé au chapitre précédent : *cellules mononucléaires.*

Florence R. SABIN et Charles A. DOAN (124) ont établi une longue distinction entre les cellules qu'ils appellent *monocytes* et celles qu'ils appellent *clasmatocytes.*

D'après les aspects particuliers, selon ces auteurs, dans chacun de ces éléments cellulaires, des vacuoles colo-

(124) Florence R. SABIN et Charles A. DOAN, *The relation of monocytes and clasmatocytes to early infection in rabbits with bovin tubercle bacilli. Journ. Exp. med.*, New-York, t. XVLI, 1927, p. 627.

rées par les colorants supra-vitaux, d'après la disposition de ces vacuoles, etc. F. R. Sabin et Charles A. Doan établissent une discrimination histologique entre le monocyte normal du sang, et le clasmatocyte quiescent des tissus. Dans les tissus ils trouvent des cellules ayant les mêmes caractères de coloration que les monocytes du sang et ils appellent aussi ces cellules *monocytes*.

D'après eux le clasmatocyte est *la cellule qui phagocyte les bacilles tuberculeux librement et les fragmente* ; *il agit de même vis-à-vis de toute autre cellule ou débris cellulaire qu'il a englobés*. Nous avons vu dans la deuxième partie (p. 106) que S. Metalnikov et V. Secreteva avaient également constaté que certains macrophages pouvaient digérer les bacilles tuberculeux, surtout lorsque ceux-ci ne sont pas très virulents.

Le monocyte au contraire pour Sabin et Doan est l'élément qui au contact de bacilles tuberculeux plus ou moins virulents prend le type épithélioïde, forme des cellules géantes du type Langhans et retient les bacilles tuberculeux intacts, lui laissant la possibilité de survivre et éventuellement de se multiplier. Alors que le clasmatocyte aurait un pouvoir de digestion véritable, les monocytes et les cellules épithélioïdes seraient seulement capables de disperser à leur intérieur le matériel ingéré, mais non de le digérer.

A notre avis, la distinction établie par les auteurs américains entre les éléments qu'ils appellent monocytes et ceux qu'ils nomment clasmatocytes est quelque peu artificielle. Il est toutefois à retenir, qu'il est parmi les macrophages *certains éléments qui peuvent digére*

les bacilles de KOCH. Lorsque nous parlerons donc de clasmatocytes, nous désignerons donc par ce terme avec SABIN et DOAN, des grandes cellules macrophagiques mononucléaires capables de fragmenter librement les B. K. sans être agminées en cellules géantes, mais nous ne nous croirons pas autorisés à les édifier en entités histologiques foncièrement différentes du monocyte. (Nous nous sommes déjà, à la page 106, entretenus de cette question, et nous avons rapporté les recherches METALNIKOV et SECRETEVA.)

Il est encore un autre point qu'il convient de préciser en ce qui concerne la nomenclature adoptée par les auteurs américains : ceux-ci ont étudié la formation de cellules géantes à la suite des injections des fractions lipoïdes du B. K., et ils sont arrivés aux conclusions suivantes : il y aurait d'après eux deux types de cellules géantes que l'on pourrait distinguer d'après leur mode de formation :

L'une serait dérivée d'un seul monocyte, ou cellule épithélioïde, et l'autre proviendrait d'une fusion cellulaire.

La cellule géante épithélioïde serait formée par division nucléaire amitotique. Elle demeurerait petite et de structure relativement uniforme. Elle comporterait une rosette de fines vacuoles, qui à l'état vivant sont colorables par le rouge neutre.

Les cellules géantes de type « à corps étrangers » seraient extrêmement variables de taille et de structure selon la nature et le nombre de cellules dont elles ont été formées, car elles proviendraient de la fusion de ces cellules. Elle ne comporteraient aucune formation cytoplasmique constante.

Ces deux types de cellules géantes seraient formées probablement par des processus réactionnels se produisant nécessairement en vue de la phagocytose de substances étrangères. Mais dans la tuberculose, ce serait probablement certaines fractions *spécifiques* des lipoïdes qui entraîneraient la production de cellules épithélioïdes mono et multinucléées. Au contraire les stimuli entraînant la formation de cellules géantes dites à « corps étrangers » seraient d'ordre beaucoup plus varié que ceux qui produiraient les cellules géantes dites épithélioïdes.

***

Nous avons condensé d'après Florence R. SABIN et Charles A. DOAN dans le tableau 12 les effets histopathologiques que ces auteurs ont obtenus par inoculation des fractions isolées du bacille de KOCH principalement par R. J. ANDERSON. (Voir tableau 12.)

RÉACTIONS CELLULAIRES AUX FRACTIONS LIPOÏDES DU B. K. ISOLÉES PAR R. J. ANDERSON

Les auteurs américains ont fait les constatations générales suivantes :

En général les réactions du tissu conjonctif normal du lapin AUX LIPOIDES du bacille tuberculeux peuvent être divisées en trois groupes, *qui correspondent aux stades que nous avons étudiés et décrits dans la deuxième partie de cet ouvrage, stades qui suivent l'inoculation des bacilles tuberculeux eux-mêmes.*

Les premières comprennent les processus réactionnels

Tableau 12

Effets histopathologiques produits par les lipoïdes et autres fractions extraites du B. K. par R. J. Anderson *comparés aux effets histopathologiques produits par les Bacilles tuberculeux.*

(D'après F. Sabin et C. A. Doan)

Bacilles tuberculeux vivants.

1° Polynucléaires neutrophiles (stade aigu de 24 heures).
2° Clasmatocytes (cellules mononucléaires phagocytantes).
3° Tubercules (monocytes-cellules épithélioïdes, cellules géantes).
4° Lymphocytes (état chronique).

Bacilles tuberculeux morts.

1° Polynucléaires neutrophiles (stade aigu de 24 heures),
2° Clasmatocytes (cellules mononucléaires phagocytantes).
3° Tubercules (monocytes, cellules épithélioïdes, cellules géantes).
4° Lymphocytes (état chronique).

Pas d'extension des lésions.

Stades concordant dans leurs grandes lignes avec ceux observés par J. Albert-Weil et R. F. Le Guyon (Voir 2e partie, p. 118).

Effets des injections intrapéritonéales des fractions chimiques isolées des Bacilles de Koch (Souche H. 37).

(Consulter en même temps tableau 8. p. 45)

Protéïnes du B. K.	Lipoïdes					Polysaccharides
	Insolubles dans l'acétone			Solubles dans l'acétone		
	Soluble dans l'alcool-éther	Solubles dans le chloroforme		Solubles dans l'alcool-éther		
	Phosphatide A_3	*Cire purifiée* (Purified wax)	*Cire douce* (Soft wax)	*Graisses complexes* (A_5)		
1° Polynucléaires neutrophiles 2° Clasmatocytes englobant des leucocytes polynucléaires.	1° Polynucléaires neutrophiles. 2° Clasmatocytes. 3° Tissu tuberculaire + + + + 4° lymphocytes.	1° Polynucléaires neutrophiles. 2° Clasmatocytes. 3° Structures ressemblant à celle des tubercules. 4° Augmentation du tissu conjonctif.	1° Polynucléaires neutrophiles. 2° Clasmatocytes. 3° Structures ressemblant à celle des tubercules.	Non essayées biologiquement.		1° Polynucléaires neutrophiles. 2° Clasmatocytes englobant des leucocytes polynucléaires.
	Acide gras I 1° Polynucléaires. 2° Clasmatocytes. 3° Structures ressemblant à celle des tubercules + + + + 4° lymphocytes.	*Acide gras II* 1° Polynucléaires. 2° Clasmatocytes. 3° Structures ressemblant à celle des tubercules + + 4° Augmentation du tissu conjonctif.	*Acide gras III* 1° Polynucléaires. 2° Clasmatocytes. 3° Structures ressemblant à celle des tubercules + + +	α) *Acide gras IV* Quelques cellules épithéloïdes en petit nombre.	β) *Acide gras V* Cellules épithélioïdes +	
		Résidu insaponifiable Provoque une réaction cellulaire du tissu conjonctif qui n'est pas spécifique. (Augmentation marquée des cellules conjonctives avec légère Monocytose locale. Pas de réaction tuberculaire spécifique.)		*Séparés par distillation fractionnée,* *Acide tuberculostéarique*, optiquement inactif. Ne produit pas de cellules épithélioïdes.	*Acide phtioïque*, optiquement actif. Cellules épithélioïdes + Augmentation du tissu conjonctif.	

irritatifs aigus non spécifiques (dilatation des vaisseaux, émigration des leucocytes surtout polynucléaires hors des vaisseaux avec leur ingestion subséquente et leur désintégration par les clasmatocytes (grandes cellules mononucléaires macrophages de notre nomenclature) ou avec formation d'abcès.

Les secondes comportent le développement *dit spécifique* des cellules épithélioïdes et des cellules géantes d'origine épithélioïde.

Et les troisièmes sont constituées par les changements non moins significatifs mais *plus généraux et moins spécifiques* survenant dans le tissu conjonctif (augmentation des cellules fixes indifférenciées du tissu conjonctif (augmentation des cellules fixes indifférenciées du tissu conjonctif, fibroblastes, clasmatocytes, cellules mononucléaires basophiles jeunes et isolées librement, lymphocytes, cellules plasmatiques et tissu fibreux, ces changements étant accompagnés d'une néoformation active des vaisseaux sanguins).

1°) **Processus réactionnel irritatif aigu** (*non spécifique*). — L'appel des leucocytes polynucléaires des vaisseaux dans les tissus est *une réponse très générale* qu'on observe initialement dans les heures qui suivent l'introduction de presque toute substance étrangère dans les tissus. *Il est difficile de trouver une substance qui ne provoque pas un afflux leucocytaire polynucléaire initial*, et ainsi que nous l'avons montré dans la deuxième partie, la réaction suit l'injection de bacilles tuberculeux vivants ou morts. *De même une telle réaction polynucléaire suit l'injection de toutes les fractions*

isolées à partir du bacille de Koch, *que ce soient des protéines, des polysaccharides, des lipoïdes ou des produits de fractionnement de ces lipoïdes mêmes.*

En général les leucocytes qui affluent alors dans les tissus, sont, dans les expériences faites avec des fractions du B. K., de même que dans celles où il s'était agi de l'injection préalable des bacilles, plus fréquemment phagocytés par les clasmatocytes que transformés en globules de pus. Si on évite des infections accidentelles, on peut dire que la formation d'abcès est une réaction assez peu fréquente à la suite d'injection de fractions extraites du B. K.

Mais ce qu'il y a de très intéressant à noter, *c'est qu'après un nombre donné d'injections de certaines fractions du B. K., les tissus cessent de répondre par un afflux initial de polynucléaires.* Par exemple, après l'administration de *phosphatide* A_3, seule la première dose provoque un afflux leucocytaire important. Après la troisième injection, on ne voit en fait de polynucléaires que des débris qui ont été antérieurement détruits par les clasmatocytes. Par contre chaque injection nouvelle de polysaccharides entraîne un nouvel afflux leucocytaire. *Il existe donc des substances (lipoïdiques) extraites du B. K. qui entraînent une espèce de dérivation des polynucléaires.*

Nous avons montré dans la deuxième partie les effets souvent néfastes de ces processus *réactionnels irritatifs aigus* survenant au cours des tuberculoses (dispersion des bacilles par les polynucléaires). On pourrait peut-être expliquer l'effet parfois favorable sur l'évolution d'une tuberculose de certaines fractions

lipoïdiques du B. K. telles par exemple *l'antigène méthylique de* Boquet et Nègre (voir p. 207) par le fait qu'elles diminuent ou empêchent les réactions polynucléaires susceptibles de survenir au cours de l'affection.

Les acides gras non dilués ont une action corrosive et des injections répétées donnent lieu à une péritonite stérile marquée. Quand les acides sont dissouts dans une huile minérale, les effets irritatifs de doses répétées, peuvent être réduits à la présence constante dans les tissus de quelques polynucléaires, comme ils peuvent l'être dans le cas d'injection de phosphatides, et il se forme à l'occasion de petits abcès.

Carrel (125) ayant trouvé que les éléments blancs du sang contiennent des substances excitantes des proliférations cellulaires, la question se posait de savoir si la néoformation de tissu conjonctif suivant l'injection des lipoïdes du B. K. était due en partie à la destruction des polynucléaires, avec libération d'agents stimulant la prolifération cellulaire. Mais on peut dire, pour répondre à cette question, que la destruction des leucocytes est un facteur commun à toutes les expériences, et ne peut donc entrer en jeu pour produire les différences dans les réactions cellulaires. Par exemple, aucune fraction du bacille tuberculeux ne provoque un afflux leucocytaire plus considérable que les polysaccharides, et cependant ces fractions provoquent une néoformation très limitée de tissu conjonctif. Par contre, la phosphatide A_3 entraîne une formation massive de nouveaux tissus avec seule-

(125) Carrel, *J. Exp. med.* 1922, t. XXXVI, p. 385, cité par F. R. Sabin, C. A. Doan et C. E. Forkner.

ment une migration polynucléaire minimum et transitoire. Les expériences faites avec la phosphatide A_3, avec laquelle la réaction polynucléaire neutrophile devient si rapidement à peu près nulle, ont rendu possible l'estimation du temps nécessaire pour que les leucocytes polynucléaires soient entièrement détruits par les clasmatocytes. Ce temps ne dépasse pas 2 jours. Nous avons fait dans nos expériences, que nous avons exposées dans la deuxième partie, des constatations à peu près analogues.

Il existe encore un autre facteur dont on doit peut-être tenir compte dans ces expériences comportant des injections de doses répétées de lipoïdes dans le péritoine du lapin : c'est que le tissu adipeux normal du péritoine du lapin, est remplacé par du tissu conjonctif de néoformation, de telle sorte que les effets possibles de la destruction des lipoïdes *des tissus eux-mêmes* doivent aussi être pris en considération.

IIº Réactions cellulaires spécifiques. — En ce qui concerne la production des cellules épithélioïdes, et de cellules géantes d'origine épithélioïde, chacun des quatre groupes primaires de lipoïdes contient certains acides gras liquides saturés qui donnent une réaction spécifique comparable en importance à celle produite par la fraction originelle, de telle sorte que l'on peut dire que les quatre fractions originelles donnent une réaction spécifique proportionnelle au taux d'acides gras qu'elles contiennent et à leur activité (voir tableau 8, p. 45 et tableau 12, p. 175).

La phosphatide A_3 et l'acide gras I donnent la réac-

tion maximum ++++. La cire douce et l'acide gras. III une réaction un peu moindre +++ ; la cire purifiée et l'acide gras II une réaction ++, et enfin la fraction active des graisses complexes A_5 donne une réaction +.

Par ailleurs le résidu insaponifiable isolé à partir de la cire purifiée (purified wax) et de la cire douce soft wax) (voir tableau 8, p. 45) provoque une réaction cellulaire des tissus conjonctifs *qui n'est pas spécifique* (augmentation marquée de cellules conjonctives avec légère monocytose locale), mais elle ne produit pas la réaction cellulaire spécifique des cellules épithélioïdes, et n'entraîne pas la formation de cellules géantes.

La fraction primaire originelle constituée de graisses complexes (fraction A_5) n'a pas été éprouvée, mais dans les acides gras provenant de cette fraction, on a pu mettre en évidence que l'activité spécifique réside dans une substance optiquement active, *l'acide phtioïque*, qui est présent dans l'acide gras IV, en petite quantité mais suffisante cependant, pour qu'il puisse donner quelques cellules épithélioïdes, lorsqu'il est injecté à l'animal, tandis que la fraction inactive de l'acide gras IV séparé et identifié comme étant un isomère de l'acide stéarique (*Acide tuberculo-stéarique*), est biologiquement inerte et ne joue aucun rôle dans la production des cellules épithélioïdes.

Il a été démontré que l'activité spécifique de l'acide gras V est dû à sa teneur en acide phtioïque.

Des études chimiques ultérieures sont nécessaires pour qu'il soit possible de savoir si l'acide phtioïque est *le seul* principe actif entraînant la formation des tubercules.

La phosphatide, les cires et leurs acides gras, ont provoqué une importante production de tissus spécifiques sous forme de masse compacte de cellules épithélioïdes donnant des structures analogues à celles des tubercules, tandis que les acides gras provenant des graisses complexes A_5 n'ont pas amené la constitution *d'amas* de cellules épithélioïdes.

Il reste à voir si ces phénomènes sont sous la dépendance des doses employées ou de la quantité de substance produisant des effets spécifiques qui est concentrée en un endroit donné. On a toujours constaté dans les réactions cellulaires observées la formation de cellules géantes, mais leur nombre et leur type ont présenté d'importantes variations : avec la phosphatide A_3 le type LANGHANS prédominait de beaucoup. On trouvait tantôt une ou deux cellules géantes au milieu d'une masse de cellules épithélioïdes, tantôt des amas constitués uniquement de cellules géantes. Entre ces deux aspects extrêmes on observait tous les degrés intermédiaires de proportionnalité entre le nombre des cellules épithélioïdes et celui des cellules géantes. On se souvient que la phosphatide A_3 a été administré en émulsion dans l'eau. En ce qui concerne les réactions des autres fractions, on doit se souvenir que le dissolvant diluant ces substances, l'huile minérale, donne lieu à la formation de quelques cellules géantes à corps étrangers lorsqu'elle est injectée seule.

Les cellules géantes étaient en plus grand nombre avec la cire purifiée et l'acide gras IV. Dans ces deux cas, de grandes cellules géantes, *du type cellules géantes à corps étrangers* prédominaient.

III° **Réactions conjonctives non spécifiques.** — En dehors de ces différences dans le nombre des cellules géantes, et des cellules épithélioïdes, on a observé des différences marquées dans l'importance de la réaction conjonctive dite non spécifique. En général la réaction est extrêmement complexe et comporte la néoformation de vaisseaux sanguins avec division active de l'endothélium et de l'adventice, la néoformation de cellules indifférenciées, de fibroblastes, de clasmatocytes, de lymphocytes, et de cellules plasmatiques. Dans ces expériences pratiquées avec les fractions lipoïdes du B. K., la formation de tissu fibreux, excepté dans le cas d'adhérences, n'a pas été extrême, et il n'y a pas eu d'encapsulation marquée de groupes de cellules épithélioïdes même durant le processus de résorption qui dure jusqu'à 5 mois. Les lipoïdes qui produisent le plus de cellules épithélioïdes, à savoir la phosphatide et la « cire douce » (*soft wax*), produisent la réaction conjonctive non spécifique la moins marquée, tandis que la cire purifiée et les graisses A_5 produisent la plus importante. La cire purifiée et son dérivé la fraction insaponifiable entraînent un développement du tissu conjonctif dû surtout à la prolifération de cellules de type fixe, tandis que l'acide phtioïque produit un tissu riche en cellules mononucléaires, jeunes et libres, monocytes, lymphocytes, et cellules plasmatiques. On trouve une hyperplasie conjonctive autour des tubercules, hyperplasie qui dans la maladie tuberculose constitue un des éléments du tissu de granulation tuberculeux, *et il est significatif qu'une telle réaction suive l'injection de lipoïdes à un très haut degré, notamment après l'in-*

jection de certaines fractions, à savoir la cire purifiée, la substance insaponifiable et la fraction A_5.

***

Certains anatomopathologistes ont fait rentrer les réactions cellulaires aux lipoïdes du bacille tuberculeux dans le groupe des réactions dites à *corps étrangers*. Cette classification n'est que partiellement exacte :

Les cellules des tissus conjonctifs peuvent être soumises aux substances étrangères de deux manières : elles peuvent être entourées par des substances qui sont solubles dans les fluides qui les baignent, par exemple les protéines et les polysaccharides dont les solutions tendront à atteindre toutes les cellules du corps.

Ou bien elles peuvent être en contact avec des substances introduites dans les tissus et qui sont insolubles ou très faiblement et lentement solubles dans les humeurs baignant les cellules.

Les lipoïdes appartiennent à ce dernier groupe ainsi que certaines autres substances, qui restent inégalement réparties dans les tissus en qualité de corps étrangers.

D'après les auteurs américains, *la réaction cellulaire à l'introduction des lipoïdes dépendrait de la taille moléculaire de la fraction injectée.*

La réaction initiale par exemple, à la phosphatide A_3, après le stade de polynucléose du début, serait surtout une réaction clasmatocytaire marquée, tandis que la réaction à l'acide gras I qui dérive de la phosphatide

A_3 consisterait en une clasmatocytose moins accentuée, et la formation de cellules épithélioïdes à partir des éléments que les auteurs américains appellent monocytes, serait plus précoce, ce qui tendrait à prouver que dans le cas d'injection d'une substance à grosse molécules (phosphatides), les cellules seraient d'abord occupées à un processus de désintégration chimique, tandis que dans le cas d'injection d'acide gras I, ledit processus s'étant déjà produit *in vitro*, l'activité clasmatocytaire deviendrait superflue.

Quoi qu'il en soit, il ressort de toutes ces expériences que les réactions à l'injection des lipoïdes du B. K. ne sont pas seulement des réactions cellulaires à l'introduction de corps étrangers, mais que *la nature des corps introduits donne aux réactions des caractères nettement spécifiques*. En effet les auteurs américains ont pratiqué des injections de contrôle avec d'autres phosphatides et matières grasses, non extraites du B. K.

Si, après des injections d'huile d'olive, on peut observer des réactions comprenant des cellules géantes, des clasmatocytes, une prolifération de fibroblastes. une réaction épithélioïde plus ou moins marqués selon les cas, *la réaction n'atteint jamais le degré observé avec la phosphatide* A_3 *et les acides gras extraits du B. K.*

Avec l'huile minérale, la réaction est minime.

Avec une lécithine, préparée à partir du tissu cérébral, la réaction obtenue est mixte avec quelques productions de tissu tuberculaire, typique en apparence, mais minime si on la compare avec celle obtenue avec la phosphatide A_3.

Avec l'acide palmitique, l'acide glycérophospho-

rique, la réaction n'est pas spécifique, comprenant surtout au stade de début, des clasmatocytes.

Quant à l'acide stéarique, isomère de l'acide tuberculostéarique qui provoque la réaction cellulaire que nous avons décrite plus haut, il produit une réaction très faible, bien inférieure à celle produite par son isomère, et constituée par un afflux modéré de clasmatocytes, et par la présence de monocytes et de cellules épithélioïdes.

***

Il est un point enfin qu'il convient pour finir de mettre en évidence : en dehors des cas de suppuration provenant d'une infection accidentelle, c'est seulement après l'injection de la phosphatide A_3, et après que cette injection ait été répétée un certain nombre de fois, qu'on observe la *caséfication.*

Les auteurs américains ont observé, comme dans les cas de caséification produite par les bacilles eux-mêmes, processus que nous avons étudié dans la deuxième partie de cet ouvrage, *un afflux de leucocytes polynucléaires au moment de la caséification.* Cet afflux polynucléaire est-il imputable à la présence de la phosphatide A_3 dans les tissus ? Il convient de remarquer que cette phosphatide possède un pouvoir limité de provoquer un afflux polynucléaire, les polynucléaires ne répondant activement qu'à la première dose injectée. *Ils surviennent donc peut être dans ce cas du fait seulement de la désintégration tissulaire produite par la phosphatide* A_3, *mais non à cause de la présence de la phosphatide elle-même.* Avec d'autres substances

cependant, les acides gras non dilués, et les polysaccharides par exemple, les doses ultérieures provoquent une réaction polynucléaire aussi marquée que la dose première.

On peut donc inférer de ces observations que durant la désintégration des bacilles tuberculeux dans les tissus, le nombre des leucocytes polynucléaires peut varier grandement selon les processus chimiques extrêmement complexes de désintégration des bacilles, et suivant la plus ou moins importante destruction des tissus qui l'accompagne. *Il est donc naturel d'observer des afflux polynucléaires à certains stades évolutifs des processus tuberculeux au niveau des tissus.*

Un processus entièrement différent de la caséification peut également être observé : si les cellules épithélioïdes en effet peuvent être rendues caséeuses, leur caséification s'accompagnant d'une infiltration polynucléaire, *elles peuvent aussi être phagocytées par les clasmatocytes sans caséification.* Un tel processus se produit au niveau de la moelle des os de lapins inoculés par voie intra-veineuse avec des doses massives de bacilles bovins. La régression du tissu tuberculaire produit chimiquement se fait aussi vraisemblablement suivant ce dernier processus. (Comparer ces faits avec les processus de régression et de disparition de lésions tuberculeuses que l'on observe parfois au cours de certaines tuberculoses.)

***

Réactions de sensibilisation et lipoides du B. K.

Malgré leur grande activité pour la production d'une hyperplasie du tissu conjonctif, *les lipoïdes du B. K. n'ont provoqué aucune sensibilisation cutanée* : des cuti-réactions pratiquées avec de la tuberculine ancienne ou avec les fractions protéiques, lipoïdes polysacchariques ont été constamment négatives chez les lapins traités avec les fractions lipoïdes. Des ophtalmo-réactions ont été également négatives. D'autre part, des inoculations ultérieures chez ces lapins de bacilles tuberculeux vivants n'ont entraîné aucune réaction allergique *immédiate*.

Il ne semble donc pas y avoir de relation entre la sensibilité cutanée et l'allergie d'une part, et la lésion cellulaire caractéristique en soi de la maladie d'autre part.

Nous reviendrons sur les phénomènes de l'allergie tuberculeuse, lorsque nous aborderons la question de l'action antigène des lipoïdes du B. K.

Si la production de tissu tuberculaire à un degré considérable par injections dans les tissus de la phosphatide A_3, ou d'acides gras saturés provenant des fractions lipoïdes du B. K. ne rend pas l'animal allergique, elle semble cependant diminuer définitivement la résistance à la maladie au cours d'une infection tuberculeuse ultérieure. D'après Doan et Sabin, le degré selon lequel les tissus réagissent spécifiquement par la formation de nouvelles cellules épithélioïdes est indiqué par la variation du rapport

monocyte-lymphocyte, l'élévation de ce rapport étant d'un mauvais pronostic selon eux (Cf. p. 129).

***

Conclusion. — Si nous tirons des conclusions de tout ce qui précède, nous voyons donc qu'il ressort des expériences pratiquées par les auteurs américains F. R. Sabin, C. A. Doan, et C. E. Forkner avec les fractions lipoïdiques isolées par R. J. Anderson à partir du bacille de Koch les faits suivants :

1° les fractions lipoïdiques du bacille tuberculeux contiennent des facteurs amenant aux stades de maturation les monocytes, les cellules épithélioïdes, et les cellules géantes ; 2° le constituant lipoïdique le plus important pour les investigations biologiques est la phosphatide A_3, car cette fraction produit la réaction la plus massive en cellules épithélioïdes et en cellules géantes ;

3° Les agents actifs de la formation des tubercules sont surtout certains acides gras de poids moléculaire élevé trouvés dans les bacilles tuberculeux. Ces acides gras sont présents dans les quatre fractions principales des lipoïdes, l'activité spécifique de ces fractions étant corrélative dans chaque cas au taux d'acides gras et à la proportion respective de chacun de ces acides qu'elles contiennnent. L'acide gras le plus efficace pour la formation des tubercules est celui qui dérive de la phosphatide A_3. L'acide phtioïque purifié et optiquement actif, obtenu à partir de la fraction A_5, produit en petites quantités des cellules épithélioïdes, mais

entraîne une réaction conjonctive non spécifique plus importante. L'acide tuberculo-stéarique optiquement inactif est relativement inerte ;

4° le tissu tuberculaire spécifique résultant de l'injection intrapéritonéale de la phosphatide A_3 subit au bout d'un certain temps une résorption : il peut disparaître par deux mécanismes *semblables à ceux qui peuvent se produire au cours de la maladie.*

D'une part *la caséification par laquelle des masses de cellules épithélioïdes dégénérées sont infiltrées par les leucocytes polynucléaires.*

D'autre part *la phagocytose des débris cellulaires par les clasmatocytes sans caséification* ;

5° En dehors de la réaction dite spécifique, les lipoïdes du B. K. produisent aussi une *prolifération marquée de cellules conjonctives non spécifique*, sans qu'il se produise cependant aucune réaction et formation de tissu fibreux aux stades aigus. Toutes les fractions lipoïdiques (acide gras I, II, etc...) sont irritantes lorsqu'elles sont injectées dans la cavité péritonéale, provoquant l'afflux de polynucléaires dans les tissus et stimulant l'activité clasmatocytaire. La substance insaponifiable isolée à partir de la cire purifiée est particulièrement active ; elle produit à un très haut degré une réaction générale *non spécifique* des cellules du tissu conjonctif.

***

Toutes ces études ont en somme montré que dans la tuberculose la production de la lésion essentielle, le tubercule, ou plutôt de son unité essentielle, la cellule

épithélioïde, *est due aux lipoïdes du bacille et spécifiquement à certains acides gras, inconnus jusqu'ici, de poids moléculaire élevé.* Mais quelque importante que soit la démonstration du fait que certains lipoïdes spécifiques soient des agents actifs dans la tuberculose, il n'est pas cependant entièrement prouvé que les lipoïdes du B. K. soient les *seuls* agents de la production des cellules épithélioïdes et des cellules géantes épithélioïdes. Nous avons dit plus haut que Dominici et Ostrowski avaient autrefois prétendu reproduire avec des poisons bacillaires indemnes de toute trace de cire ou de graisse des lésions tuberculeuses et caséeuses ; il est vrai qu'ils avaient utilisé un extrait protéique peut être impur.

D'autre part, dans beaucoup de processus pathologiques autres que la tuberculose, on trouve des cellules épithélioïdes. Bien plus, elles sont même produites, nous l'avons vu, par d'autres corps étrangers lorsqu'ils sont introduits dans les tissus, tels par exemple la lécithine. Il reste donc à savoir, s'il existe dans les différentes substances productrices de cellules épithélioïdes, un facteur chimique commun, agent actif de cette production, ou si cet agent de production des cellules épithélioïdes est au contraire constitué par des substances de composition variée que la cellule pourrait réduire et disperser en particules fines, mais se montrerait incapable de modifier ou de digérer avec rapidité. Il semble toutefois, nous l'avons vu, qu'il existe dans le bacille tuberculeux des fractions particulières des lipoïdes capables de provoquer *spécifiquement* une beaucoup plus grande formation de cellules épithélioïdes.

Il nous faut maintenant essayer de comparer les résultats obtenus par les auteurs américains avec ceux auxquels sont parvenus leurs prédécesseurs, en particulier Auclair et Paris. La comparaison est difficile, étant donné que R. J. Anderson, par des méthodes chimiques plus précises, a poussé infiniment plus loin le fractionnement des constituants lipoïdiques.

De plus R. J. Anderson est parti de cultures en milieu synthétique, tandis qu'Auclair et Paris ont travaillé sur des bacilles ayant poussé sur bouillon glycériné.

Nous avons vu p. 160 en nous étant reportés au tableau 10 p. 47 que les compositions respectives de l'éthérobacilline et de la chloroformo-bacilline, semblaient devoir être assez analogues. Ces substances comportaient certainement des cires, des glycérides, des phosphatides.

F. Sabin, C. A. Doan, et leurs collaborateurs expérimentant les produits isolés par R. J. Anderson, ont trouvé comme Auclair que les lipoïdes du B. K. sont doués aussi de propriétés tuberculisantes, à l'occasion aussi caséifiantes (phosphatide A_3). Ils ont observé assez rarement la production de sclérose. La différence d'action entre le chloroformo-bacalline et l'éthéro-bacilline ne semble pas à retenir. Mais il est vraisemblable que le fractionnement du B. K. poussé aussi loin que celui que le fit R. J. Anderson, tout en permettant d'individualiser des fractions plus précises ayant des propriétés données, *limite ces propriétés et ne les rend pas tout à fait comparables à celles de fractions plus grossières.* Les auteurs américains ont su dissocier

la réaction brutale observée par les auteurs français et en mettre en évidence dans une certaine mesure les facteurs chimiques.

Par ailleurs, alors qu'Auclair ne constata aucune modification notable soit favorable soit défavorable de l'évolution de la tuberculose du cobaye à la suite de l'injection à l'animal tuberculeux de chloroformo-bacilline ou d'éthéro-bacilline, Sabin et Doan ont trouvé au contraire, semble-t-il, que les injections *répétées* de phosphatide A_3 ou d'acide gras saturé provenant des lipoïdes du B. K. diminuaient, du fait de la production considérable de tissu tuberculaire, la résistance de l'animal à l'infection tuberculeuse ultérieure. Ce fait prouve en somme, que les lipoïdes du B. K. exercent une action spécifique, puisque l'injection d'un autre lipoïde phosphoré tel que la lécithine augmente au contraire, ainsi que l'a montré H. Claude dans l'expérience dont nous avons rendu compte à la p. 163, la résistance des cobayes à la tuberculose (126). Mais on doit tenir compte aussi que les auteurs américains ont pratiqué des injections *intrapéritonéales*, qui sont en somme assez traumatisantes.

Maintenant que nous avons rendu compte des effets histopathologiques observés chez l'animal par les auteurs récents et plus anciens, à la suite de l'injection de fractions lipoïdiques isolées à partir du B. K., il nous faut aborder maintenant la question de savoir si ces lipoïdes ont ou non un pouvoir antigénique.

(126) L'expérience de Claude serait d'ailleurs à refaire et à vérifier avec diverses lécithines.

CHAPITRE II

LA QUESTION DU POUVOIR ANTIGÈNE DES LIPOÏDES DU BACILLE TUBERCULEUX

Nous avons discuté au début de la deuxième partie de cet ouvrage la question des antigènes lipoïdiques (voir p. 87). Nous avons dit, rappelons-le, que le pouvoir antigénique *provocateur* des lipoïdes n'est pas à la vérité hors de conteste, et que des résultats négatifs ont été généralement observés, lorsqu'on a utilisé des phosphatides purifiées : Il est possible, par conséquent, que dans le cas d'antigènes dits lipoïdes, l'anticorps actif soit, comme l'a fait remarquer Landsteiner, une substance non lipoïde entraînée par les lipoïdes dans leurs dissolutions. Nous ajoutions que peut-être les lipoïdes confèrent aux protéines antigènes auxquelles ils sont unis et parfois même combinés, une spécificité antigénique particulière. Sans être antigènes par eux-mêmes il se peut que les lipoïdes accentuent l'action d'un antigène. On sait d'après l'expérience de Pick et Schwarz (*Bioch. zeitsch.*, 1909) que nous avons mentionnée à la p. 89 que si on injecte à un animal du bacille typhique dans une suspension de

lécithine à 1 %, on obtient avec de plus faibles doses une agglutine plus énergique. Il nous faut à ce propos citer les travaux récents de M. Karl Heden de Stockholm. Cet auteur a fait le 23 décembre 1930 une lecture à l'Académie de Médecine concernant des extraits de B.K. additionnés de lécithine donnant d'après lui des réactions allergiques analogues à celles de la tuberculine (127).

Il est possible que la lécithine exalte le pouvoir antigénique d'une fraction protéïque du bacille. D'ailleurs Wassermann (128) a antérieurement préparé des antigènes tuberculeux lécithinés, suivant une technique se rapprochant de celle de l'auteur suédois.

***

Lorsqu'on étudie la question du pouvoir antigénique des lipoïdes du B. K., il faut convenir qu'en l'état actuel des recherches, qui ont été pratiquées jusqu'à ce jour, le problème est singulièrement compliqué. En effet ce n'est pas en expérimentant avec des fractions lipoïdiques assez nettement définies, telles celles qui ont été extraites du bacille de Koch par les méthodes de Goris ou de R. J. Anderson que les différents chercheurs ont étudié le pouvoir antigène possible, récepteur et éventuellement provocateur des lipoïdes du B. K. Chacun d'eux au contraire a travaillé en opérant sur des complexes de substances extraits selon des

(127) *Bull. Acad. Med.*, Séance du 23 décembre 1930, t. CIV, n° 41, p. 735.

(128) *Deutsche Mediz. Wochenschrift*, 1923, p. 303.

méthodes personnelles et variables selon les cas. Ils ont d'ailleurs eu peut-être partiellement raison, car, ainsi que nous le verrons, *le pouvoir antigène d'une fraction bacillaire semble être d'autant plus grand que sa constitution chimique est plus complexe.*

A la lueur des notions, que nous avons jusqu'à présent acquises, nous pouvons maintenant entreprendre l'analyse critique des travaux qui ont traité de l'antigénie des bacilles tuberculeux.

Il nous faut rappeler tout d'abord avant d'aborder cette étude les différentes méthodes qui peuvent être mises en œuvre pour mettre en lumière le ou les pouvoirs antigènes de substances données.

***

Nous avons dit lorsque nous avons étudié les conceptions modernes des substances antigènes que nous ne connaissions les anticorps que par les réactions auxquelles ils donnent lieu lorsqu'on les mélange à l'antigène correspondant. Il est toute une série de réactions pratiquées *in vitro* qui donnent la preuve d'une réaction antigène-anticorps. On peut mettre en œuvre ces réactions en se plaçant à deux points de vue différents : on peut dans un premier cas mettre en présence la substance présumée antigène avec un sérum animal, par exemple, que l'on sait à l'avance devoir contenir des anticorps, la production d'anticorps ayant été obtenue antérieurement chez l'animal par le ou les injections préalables d'antigènes déjà connus. (Par exemple on pourra, comme l'ont fait G. Dreyer

et L. Wollum (129) par inoculations préalables par voie intra-veineuse de bacilles dégraissés par l'acétone puis formolés (vaccin diaplyte de Dreyer et Wollum), obtenir un sérum précipitant fortement *in vitro* la tuberculine ancienne). On recherche ainsi les propriétés antigéniques *réceptrices* de l'antigène considéré.

Dans un deuxième cas, afin de rechercher le pouvoir antigénique *provocateur* de la substance étudiée, on peut faire d'abord une ou plusieurs inoculations à l'animal de cette substance par diverses voies, et pratiquer ensuite, après un laps de temps convenable, avec les humeurs de l'animal considéré, les réactions antigènes-anticorps *in vitro*. On pourra pratiquer ces réactions non seulement vis à vis de l'antigène considéré, mais aussi vis à vis d'autres substances, ce dernier moyen permettant de se rendre compte du degré de spécificité de la réaction obtenue.

Dans les deux cas, on est donc amené à pratiquer diverses réactions *in vitro*. *Nous verrons plus loin qu'il est possible aussi de mettre en œuvre certaines réactions* in vivo, *qui ont une valeur aussi en ce qui concerne l'antigénie.*

A) **Réactions antigènes-anticorps in vitro.** — Nous n'entrerons pas dans les détails de leur technique qui sont présumés être connus du lecteur.

1° *Réaction d'agglutination.* — Dans les cas de recherches du pouvoir antigène récepteur des lipoïdes du B. K., on n'a évidemment pas à pratiquer cette réaction, qui n'est praticable que lorsque l'antigène se présente sous forme d'éléments figurés (bactéries, hématies ou autres cellules), mais

(129) *Lancet*, 15 novembre 1924, p. 1003.

on pourrait être amené à rechercher, si l'injection lipoïdique ou autre développe dans le sérum de l'animal considéré des agglutinines vis-à-vis des bacilles.

2° *Réactions de précipitation.* — Pourraient être à pratiquer dans quelques cas, les extraits antigènes solubles pouvant éventuellement être précipités de certaines de leurs solutions par les sérums précipitants. On pourrait rechercher aussi si l'injection de l'antigène donné crée des sérums précipitants soit cet antigène lui-même, soit d'autres antigènes (par exemple injection de bacilles peut entraîner la formation d'un sérum précipitant la tuberculine ancienne).

3° *Réaction de fixation de* Bordet-Gengou. — On se rappelle que le principe de cette réaction était le suivant d'après la théorie initiale de Bordet et Gengou : lorsqu'on met en présence un antigène et l'anticorps correspondant, l'alexine (ou complément) d'un sérum frais se fixe sur l'antigène. La preuve de cette fixation est fournie par ce fait que si l'on ajoute au mélange des hématies de chèvre, par exemple (préalablement débarrassées de toute trace de sérum par plusieurs lavages et centrifugations successifs), puis une quantité convenable de sérum hémolytique pour les hématies de chèvre et inactivée par chauffage à 58°, l'alexine n'étant plus libre pour *activer* ce sérum hémolytique, celui-ci est incapable de se fixer sur les hématies et de produire l'hémolyse. L'absence d'hémolyse sert de témoin à la déviation, ou autrement dit à la fixation de l'alexine sur le complexe antigène anticorps. Si la même épreuve est effectuée en mettant en présence l'antigène et l'alexine seule, ou l'anticorps et l'alexine seule, la fixation de l'alexine sur l'antigène ou sur l'anticorps isolé ne pouvant s'effectuer, cette alexine reste *libre* : lorsqu'elle se trouve ensuite en présence des hématies de chèvre, et du sérum hémolytique anti-chèvre inactivé, elle active ce dernier et l'hémolyse se produit.

La recherche de la déviation du complément peut être faite dans la tuberculose par exemple selon la technique de Calmette et Massol au sérum chauffé, ou selon la technique au sérum non chauffé (technique de J. Valtis, technique de Massias, etc...) Ces deux techniques ont été employées

par Nègre et Boquet pour rechercher les anticorps dans le sérum des tuberculeux en employant comme antigène, l'antigène méthylique. Nous ne les décrirons pas ici, elles se trouvent exposées dans tous les traités (130).

Des trois réactions que nous venons de décrire (réaction d'agglutination, réaction de précipitation, réaction de déviation du complément), *c'est surtout et essentiellement la dernière qui est employée pratiquement.*

Par ailleurs, on pourrait aussi théoriquement rechercher si après les injections uniques ou répétées d'un antigène tuberculeux à un animal le pouvoir opsonique de cet animal est augmenté vis-à-vis des bacilles et s'il y a élévation ou abaissement de l'index opsonique. Cette recherche qui serait intéressante n'a pas encore été entreprise.

B) **Réactions in vivo.** — En dehors des réactions *in vitro*, qu'il est possible de mettre en œuvre pour déterminer le pouvoir d'un antigène, il est d'autres réactions à pratiquer *in vivo* qui doivent prendre place vraisemblablement à côté des réactions antigène-anticorps. Ce sont essentiellement les cuti, intradermo, ophtalmo-réactions et d'autre part les réactions dites générales que peuvent produire chez l'animal sain ou chez l'animal tuberculeux des antigènes qui ont été inoculés. Enfin, ainsi qu'il ressort de ce que nous avons dit au précédent chapitre et dans la deuxième partie, les réactions cellulaires générales (formules sanguines, etc.), ou locales, devraient compléter l'étude des réactions humorales provoquées par un antigène ou une substance déterminés. Nous avons pourtant envisagé à part l'étude des réactions cellulaires.

Les antigènes qui ont été étudiés au point de vue des réactions humorales *in vitro* et *in vivo* n'ont pas été définis chimiquement avec autant de précision

(130) Voir L. Nègre et A. Boquet, *Antigéno-thérapie de la tuberculose.* Masson et C^ie^ éditeurs, 1927, p. 24.

Calmette, *L'Infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux.* Masson et C^ie^ éditeurs, 1928, 3^me^ éd., p. 613.

que les fractions isolées par Goris ou par R. J. Anderson. L'étude des réactions cellulaires qu'ils pourraient provoquer n'a pas été faite, mais les travaux chimiques et biologiques des auteurs français et américains pourront fournir des indications sur la composition chimique et l'action histopathologique possible de ces extraits bactériens dont nous allons maintenant étudier le pouvoir antigénique.

***

Depuis les travaux de H. Much (131), Kurt Meyer (132) Boquet et Nègre (133), M. Pinner (134) et de L. Dienes (135), il semble à peu près prouvé que la spécificité des antigènes contenus dans les extraits lipoïdiques est différente de la spécificité des substances protéïques du bacille de Koch, telles celles isolées par H. Mueller par exemple, et du complexe hydro-carboné précipitable du groupe des pentoses isolé par Laidlaw et Dudley dont nous avons déjà étudié rapidement les pouvoirs antigènes (voir p. 73 et suivantes) et dont nous nous occuperons plus loin. Il semble établi aussi que les extraits lipoïdiques du B. K. ont certains effets antigènes *in vivo*. Toute la question se pose pourtant de savoir si ces extraits ne

(131) H. Much, *Beitr. Z. Klin. Tuberk.*, 1911, t. XX, p. 341.
(132) Kurt meyer, *Zeitschr. Immun. Forsch.*, 1912, t. XV, p. 245.
(133) A. Boquet et L. Nègre, *Ann. de l'Inst. Past.*, 1923, t. XXXVII.
(134) M. Pinner, *Amer. Rev. Tuberc.*, *a*) 1927, t. XV, p. 714 ; *b*) 1928, t. XVII, p. 86.
(135) L. Dienes, *Journ. of Immunology*, 1929, t. XVII, n° 2, p. 85.

contiennent pas des fractions protéiques qui seraient activées par les lipoïdes. La préparation des phosphatides à l'état de pureté absolue en effet est d'autant plus difficile que, étroitement associées aux protéines, elles forment avec elles, ainsi que l'ont montré MAYER et TERROINE, des complexes solubles dans l'alcool. Parmi les recherches expérimentales qui ont été faites touchant l'action antigénique des phosphatides, beaucoup ont été ainsi pratiquées avec des produits impurs, et les chimistes ne manquent pas de faire remarquer, que les phénomènes attribués aux phosphatides seules sont en réalité dus à des complexes lipoido-protéïques ou à de faibles quantités de protéines non éliminées au cours des manipulations.

KURT MEYER étudiant les propriétés antigènes des divers extraits obtenus en faisant agir sur des bacilles de KOCH les solvants suivants : alcool, benzine, acétone, éther, et éthylène trichloré constata que la fraction de corps bacillaires insoluble dans l'acétone et soluble dans l'alcool, composée de phosphatides principalement (comparer avec fraction A_3 de R. J. ANDERSON), possédait le pouvoir fixateur le plus élevé. Il obtint avec la fraction des lipoïdes bacillaires insolubles dans l'acétone et solubles dans l'alcool la fixation du complément en présence d'anticorps tuberculeux d'une manière beaucoup plus intense qu'avec les protéines résiduelles (136). KURT MEYER admit la présence de deux anti-

(136) La spécificité antigénique des lipoïdes du B. K. n'est peut être pas toujours absolue. L. MASSOL a démontré en effet que les bacilles diphtériques, dont la constitution chimique se rapproche de celle du B. K., fixent les anticorps produits par ce der-

gènes différents dans les substances lipoïdes des bacilles tuberculeux. Cependant les sérums avec lesquels les antigènes furent différenciés avaient un titrage peu élevé.

Recherches de Boquet et Nègre

Boquet et Nègre ont étudié dans le même ordre d'idée que Kurt Meyer les propriétés fixatrices *in vitro* des matières grasses, des cires, et des phosphatides bacillaires avec un sérum antituberculeux, sérum obtenu en traitant des chevaux par des injections répétées de bacilles, de B. C. G. vivants par exemple, en exprimant leur activité selon la méthode de Calmette et Massol par le nombre de doses d'alexine fixées au cc. Il ressortait de leur étude que les propriétés antigènes appartiennent surtout comme le pensait Kurt Meyer, contrairement à Much, aux lipoïdes insolubles dans l'acétone et solubles dans l'alcool éthylique, ou mieux encore *dans l'alcool méthylique*. Toutefois le rôle des graisses et des cires est loin d'être négligeable, car une extraction préliminaire complète des corps microbiens au moyen de l'acétone enlève une fraction importante des substances antigènes et diminue l'activité des extraits méthyliques ultérieurs (Boquet et Nègre) (voir tableaux 6, p. 33 et 10, p. 47),

nier et il a vu, qu'inversement les bacilles tuberculeux ont le pouvoir de fixer les anticorps diphtériques.

Ce fait a été confirmé par Boquet et Nègre qui ont vu que les extraits alcooliques de bacilles diphtériques fixent les anticorps tuberculeux au même titre que les extraits de B. K., puis par Urbain (Calmette).

indiquant les diverses substances ou complexes de substances susceptibles d'être extraites du B. K. par l'extraction méthylique et acétonique d'après les travaux de GORIS d'une part, de R. J. ANDERSON d'autre part). La fraction des bacilles de KOCH soluble dans l'acétone fixe *in vitro* l'alexine à un taux très faible avec le sérum de lapin soumis à des injections de corps microbiens.

BOQUET et NÈGRE ont employé la technique suivante pour la préparation de leur extrait méthylique du B. K. :

Des bacilles humains et bovins provenant de cultures sur bouillon glycériné âgées de 6 semaines sont stérilisés, par un chauffage de 30 minutes à 120°, et séparés du milieu de culture par filtration sur papier. Les corps bacillaires sont ensuite lavés sur le filtre à l'eau distillées, puis desséchés à l'étuve ou dans la cloche à vide. Les microbes secs sont traités par de l'acétone pendant 24 heures (1 cc. d'acétone par centigramme de bacilles), desséchés de nouveau, et finalement mis à macérer dans *l'alcool méthylique à* 99° (1 cc. d'alcool par centigramme de bacilles). BOQUET et NÈGRE estiment indispensable d'employer de l'alcool méthylique à 99°, car, d'après eux, l'action dissolvante des alcools à titre plus faible est presque nulle. Nous verrons plus loin quand nous rendrons compte des travaux de L. DIENES que ce dernier auteur a employé comme solvant, au contraire, des alcools à des titres variés.

On laisse en contact les bacilles et l'alcool méthylique à 99° pendant 10 à 12 jours en agitant fréquemment. Le liquide séparé par filtration du dépôt microbien constitue l'antigène tuberculeux qui est

employé à la dose de 1/20 de cc. soit 1 cc. de la dilution au 20e dans l'eau physiologique. Au moment de l'emploi, l'antigène rendu limpide par un séjour de quelque minutes à l'étuve ou au bain-marie à 50° est additionné d'abord goutte à goutte puis plus rapidement d'eau physiologique dans les quantités indiquées. Pour éviter les échecs il est indispensable de se conformer à cette technique (Boquet et Nègre). Le pouvoir empêchant de cette dilution est nul en présence de la dose minima d'alexine.

***

Ayant étudié le pouvoir antigène récepteur *in vitro* des extraits acétoniques et méthyliques du B. K., Boquet et Nègre ont voulu étudier aussi leur pouvoir antigène provocateur *in vivo*. Après avoir rendu ces extraits injectables par séparation de l'alcool méthylique ou de l'acétone, ils les ont inoculés à l'animal (lapin). Ils ont employé la technique suivante pour l'extrait méthylique par exemple : l'extrait méthylique des B. K. préalablement traité par l'acétone est additionné d'abord goutte à goutte, puis plus rapidement sans cesser d'agiter le mélange d'une quantité égale d'eau distillée. L'émulsion laiteuse ainsi obtenue est portée au bain-marie à 48°-50° et distillée dans le vide jusqu'à évaporation complète de l'alcool.

Cette émulsion dont 1 cc. correspond à 1 centigramme de corps microbiens desséchés et à 5 centigrammes de corps microbiens frais, lavés, conserve les propriétés fixatrices de la solution alcoolique primitive. Injectée quatre fois tous les deux jours à des lapins neufs par

la voie veineuse à la dose de 2 à 3 cc. elle provoque une abondante formation d'anticorps mis en évidence par la réaction de BORDET-GENGOU, en employant comme antigène l'extrait méthylique correspondant. Le titre de la sensibilisatrice atteint, 9 jours après la dernière injection préparante, 60 à 100 unités de CALMETTE-MASSOL chez les lapins neufs, et jusqu'à 1.200 unités au lieu de 20 avant le traitement chez les lapins tuberculeux (BOQUET et NÈGRE).

Ces expériences ont établi que les extraits méthyliques de bacilles tuberculeux se comportent, quant à la production des anticorps comme un véritable antigène. Mais il faut noter que ces extraits contiennent à la fois des graisses, des cires, des phosphatides et des substances azotées complexes dont il convenait d'étudier séparément l'action *in vivo* et de déterminer la valeur par comparaison.

BOQUET et NÈGRE ont montré que les graisses et les cires de l'extrait acétonique bacillaire injectées à des animaux neufs produisent des anticorps décelables par la réaction de fixation du complément à la fois avec l'extrait acétonique homologue (80 unités) et la tuberculine brute, mais non avec les émulsions et les extraits méthyliques de bacilles de KOCH. *In vitro*, elles fixent l'alexine uniquement avec le sérum de lapins traités par des injections d'extraits correspondants.

« L'extrait méthylique de B. K. privé de la plus « grande partie de ses graisses et cires par l'acétone « se comporte *in vitro* comme un antigène très actif « *en présence* de sérums de lapins traités avec des

« bacilles totaux (750 unités), moyennement actif « en présence de sérum de lapins traités par l'extrait « homologue (100 unités), faiblement actif en présence « de sérum de lapins traités par des bacilles épuisés « par l'acétone (60 unités) et très faiblement actif « en présence de sérum de lapins traités par des « bacilles épuisés à la fois par l'acétone et par l'alcool « (30 unités). Mais il ne fixe pas sensiblement l'alexine « avec le sérum de lapins soumis à des injections « d'extraits acétoniques bacillaires ou de tuberculine « (quatre injections intraveineuses de 1 cc. de tuber- « culine brute. Saignée 9 jours après la dernière « injection). »

***

Graisses, cires et phosphatides sont donc bien des antigènes d'après Boquet et Nègre, mais *des antigènes à champ restreint*, des antigènes partiels pour employer la formule de Much. Nous verrons plus loin que certaines fractions du bacille de Koch se comportent comme de véritables *haptènes* (nous avons exposé dans la deuxième partie ce qu'on entendait par ce terme, voir p. 88 et suivantes).

In vivo, le pouvoir antigène des bacilles intacts morts est très supérieur à la somme des pouvoirs antigènes des extraits acétoniques (80 unités) et méthyliques (100 unités) correspondants, et des corps résiduels (30 unités).

Une fraction importante des substances bacillaires fixatrices disparaît au cours des extractions successives sous l'action des solvants utilisés, particulièrement de

l'acétone. Si, même après avoir été soumises pendant une demi-heure à une température de 120°, les protéines bacillaires c'est-à-dire, dans ce cas des expériences de Boquet et Nègre, les bacilles ayant subi l'extraction acétonique et méthylique (mais toutes les fractions lipoïdes ont elles été enlevées ?), présentent encore des propriétés antigéniques « réceptrices » *in vivo* très élevées, elles subissent au contact de l'acétone et de l'alcool méthylique des modifications qui les rendent impropres à produire les anticorps chez les animaux neufs et à fixer l'alexine en présence de sérums riches en sensibilisatrices. Elles conservent néanmoins leurs propriétés réactionnelles caractéristiques, car lorsqu'on les injecte à la dose de 5 à 10 milligrammes dans le derme ou sous la peau à des cobayes tuberculeux, elles provoquent un phénomène de Koch typique comme les bacilles intacts (Boquet et Nègre) (Cf. fonctions haptènes).

Boquet et Nègre ont comparé le pouvoir antigénique de lipoïdes du B. K. avec celui de l'ovolécithine (antigène lécithiné. Solution 11/2.000). Ils ont constaté que lorsqu'on ajoute de l'ovolécithine aux extraits alcooliques de B. K., on n'augmente pas leur pouvoir antigène à l'égard des sérums antituberculeux (sérums de chevaux traités par les injections répétées de B. C. G. vivants), soit qu'ils fixent à eux seuls tous les anticorps de ces sérums, ou que le pouvoir antigène *in vitro* de la lécithine soit identique à celui des extraits et se confonde avec lui dans la réaction.

Injectée à plusieurs reprises (5 fois 2 centigrammes à deux jours d'intervalle par la voie veineuse à des

lapins neufs ; saignée 9 jours après la dernière injection), l'ovolécithine produit des anticorps actifs *in vitro* avec les émulsions d'ovolécithine (100 unités), avec la tuberculine brute (60 unités) avec les extraits méthyliques de bacilles tuberculeux (40 unités), et de bacilles diphtériques (60 unités), mais non en présence d'extraits méthyliques de bacillus subtilis, de bacilles de la Fléole, et de l'antigène syphilitique (antigène de Bordet-Ruelens). *Les propriétés de la lécithime dans ce domaine, sont donc comparables à celles des extraits alcooliques de bacilles tuberculeux, paratuberculeux et diphtériques*, et on peut s'autoriser de cette constatation pour englober toutes ces substances avec de simples restrictions quantitatives dans un même groupe d'antigènes (Boquet et Nègre).

Le bacille tuberculeux est constitué, semble-t-il d'une véritable *mosaïque d'antigènes*, selon l'expression de Ch. Nicolle, dont les fragments les plus actifs seraient *in vitro* les lipoïdes et *in vivo* les protéines. inaltérées et plutôt *des complexes lipoïdo-protéïques*

Les modifications qualitatives et quantitatives que déterminent les bacilles tuberculeux et leurs extraits sont d'autant plus intenses que les substances injectées sont chimiquement plus complexes et plus riches en protéines inaltérées (Boquet et Nègre).

Il semble d'après ces auteurs que la fraction antigène fondamentale des lipoïdes bacillaires appartienne à *la classe des phosphatides* dont l'ovolécithine est le type.

Recherches personnelles (137)

RÉACTIONS CELLULAIRES APRÈS INJECTION D'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE

Nous avons voulu voir avec R. F. LE GUYON quelles étaient les réactions cellulaires des cobayes sains et tuberculisés après injection intra-péritonéale d'antigène méthylique de BOQUET et NÈGRE. Nous avons inoculé 1 cc. d'antigène méthylique à deux cobayes sains et à trois cobayes tuberculisés par des produits pathologiques, respectivement à 36, 60 et 65 jours.

Chez les cobayes sains, nous n'avons observé, dans les heures et jours suivant l'injection, qu'une réaction cellulaire très faible et banale (polynucléose et surtout mononucléose légère) ; chez tous les cobayes tuberculeux, nous avons constaté, dès la 6e ou 7e heure suivant l'injection, une assez forte réaction cellulaire : polynucléose et monònucléose marquée. Notons que la polynucléose est beaucoup moins intense que celle observée par nous dans l'exsudat péritonéal des cobayes tuberculeux réinoculés avec des bacilles de KOCH : il s'agit d'une leucocytose mixte d'emblée. Dès le jour suivant, le nombre des polynucléaires diminue. La macrophagie est très active. Beaucoup de polynucléaires présentent des signes de dégénérescence. De nombreux polynucléaires sont englobés

(137) J. ALBERT-WEIL et R. LE GUYON, *Réactions cellulaires après injection d'antigène méthylique* (*C. R. Soc. de Biologie*, t. 105, p. 981, Société de Biologie de Strasbourg, séance du 12 décembre 1930).

par des macrophages. Rapidement, dans les jours qui suivent, la réaction cellulaire s'atténue. Il ne subsiste qu'une légère mononucléose.

Notons que chez tous les cobayes, *la température n'a varié que de 1 à 2 dixièmes de degré, 3 heures après l'injection d'antigène méthylique.*

Ces faits sont intéressants parce qu'ils montrent : 1° la plus grande réactivité cellulaire des cobayes tuberculeux à l'antigène méthylique ; 2° la mononucléose précoce, réaction favorable qui, dans certains cas de tuberculose, donne des résultats heureux.

***

En parfaite conformité avec les travaux de Boquet et Nègre, il convient de signaler que M. Pinner (138) en 1928 et après lui F. Sabin et Charles.A. Doan ont constaté que presque seules de toutes les fractions isolées à partir du B. K., par R. J. Anderson, la phosphatide A_3 se comporte comme un antigène complet, quand elle est administrée par voie intraveineuse aux animaux (lapins). Il se développe des anticorps spécifiques dans le sérum, qui sont mis en évidence par la réaction de précipitation et la réaction de fixation du complément. Les sels des acides gras ne semblent pas posséder des propriétés antigéniques.

Ainsi donc, la phosphatide A_3 *de* R. J. Anderson *peut provoquer deux réactions différentes : injectée directement dans les tissus, elle entraîne la formation de*

(138) M. Pinner, *Amer. Rev. tubere.*, 1928, t. XVIII, p. 497.

cellules géantes ; injectée dans le courant sanguin, elle donne naissance à des anticorps chez certains animaux. Mais comme pour l'antigène méthylique, on ne peut savoir si son antigénie provocatrice est l'apanage de substances lipoïdes, ou, comme il est plus vraisemblable, d'éléments protéïques unis à des lipoïdes.

Recherches de L. DIENES (139)

SES ESSAIS DE DIFFÉRENCIATION SÉROLOGIQUE DES ANTIGÈNES TUBERCULEUX

L. DIENES dans un travail extrêmement complexe et étendu rend compte de ses longues recherches conernant les substances antigènes du bacille tuberculeux. Il a préparé des extraits bacillaires non plus en employant l'alcool, uniquement à un degré élevé, comme BOQUET et NÈGRE (alcool méthylique à 99°), mais en faisant varier au contraire le titre des alcools employés. Il a fait par ailleurs des extraits éthérés et acétoniques.

Par exemple, il a traité des bacilles humides, d'abord par l'alcool éthylique à 50% (pendant 16 heures), puis par l'alcool éthylique à 75% (5 heures), puis par l'alcool éthylique à 85%. Ces extractions ont été suivies dans certains cas par des traitements par

(139) L. DIENES : *a) The antigenic substances of the tubercle bacillus. The examination of the antigenic properties* (*Journ. of Immun.*, t. XVII, août 1929, n° 2, p. 85).

b) The chemical examination of the antigenic substances of the tubercle bacillus extracted with lipoid solvents, (*Journ. of Immun.*, t. XVII, août 1929, n° 2, p. 157).

c) Connection between the tuberculin activity and antigenic properties (*Journ. of Immun.*, t. XVII, août 1929, n° 2, p. 173).

l'alcool éthylique absolu, l'éther, l'alcool méthylique absolu. Dans d'autres cas les extractions alcooliques étaient précédées d'une extraction par l'acétone et l'éther.

Bien entendu, la composition des divers extraits variait selon la concentration de l'alcool employé pour l'extraction avec l'alcool à 50 % par exemple une importante fraction de l'extrait obtenu n'était pas soluble dans l'éther et l'alcool méthylique, et donnait des réactions tuberculiniques. Il s'agissait d'éléments protéiques.

Les fractions obtenues furent examinées sérologiquement plus ou moins complètement. *Par la méthode sérologique*, L. Dienes *entreprit une différenciation très poussée de nombreux antigènes tuberculeux.* L'auteur prépara les sérums qu'il employa pour la différenciation des antigènes lipoïdes en traitant des lapins avec des bacilles tuberculeux vivants ou morts, et en traitant des *cobayes déjà tuberculeux* avec des bacilles de Koch ou avec *les extraits divers qu'il prépara à partir des bacilles selon les méthodes que nous avons mentionnées plus haut.* En dehors des sérums obtenus par inoculation d'une émulsion de bacilles de Koch intacts, l'auteur obtint des sérums réagissant notablement avec certains antigènes tuberculeux, soit par injection d'éléments des corps microbiens préparés par légers broyages et centrifugation d'une émulsion bacillaire, soit par injection d'extraits alcooliques bacillaires dilués et non purifiés. Les sérums *préparés d'une manière semblable* et réagissant à un degré élevé avec certains antigènes (par exemple avec une émulsion bacillaire, ou avec un extrait bacillaire, non purifié, par l'alcool éthylique à 75%) *diffèrent dans leurs réactions avec*

d'autres antigènes. Aussi a-t-il été nécessaire à L. DIENES *de préparer toujours plusieurs sérums* suivant une méthode donnée et d'examiner complètement l'action de chaque sérum

Il convient de faire ici une remarque au sujet des conditions qui doivent être remplies pour rendre possible la différenciation des antigènes et des anticorps correspondants. L'antigène et l'anticorps sont d'abord caractérisés par leurs réactions communes, et la seule preuve nette que deux antigènes donnés ont une spécificité différente n'est fournie que lorsqu'*aucun d'entre eux ne donne une réaction avec les anti-corps réagissant avec l'autre. Pour exclure les erreurs dans la réaction, il faut étudier la réaction avec plusieurs sérums, et les sérums doivent être d'un titre élevé.* On peut conclure avec une quasi-certitude qu'une substance, ou qu'un complexe microbien, contient des antigènes différents, lorsque les extraits divers préparés à partir de cette substance ou de ce complexe réagissent régulièrement avec plusieurs sérums, et beaucoup plus fortement, du fait des antigènes particuliers qu'ils contiennent, avec les sérums homologues (140) qu'avec les sérums hétérologues.

Quand la discrimination d'antigènes donnés par la réaction antigène-anticorps est unilatérale, comme ce peut être le cas pour certains antigènes lipoïdes du

(140) On appelle sérum homologue un sérum obtenu par injection d'un antigène sensiblement identique ou d'un complexe d'antigène comprenant un antigène identique à celui avec lequel on pratique ensuite la réaction de fixation. On appelle sérum hétérélogue un sérum obtenu avec un ou plusieurs antigènes différents plus ou moins de l'antigène avec lequel on pratique la réaction de fixation.

B. K., on peut arriver par exemple aux résultats suivants : on peut obtenir, par injection d'un extrait antigène donné *a*, des sérums qui réagissent avec cet antigène *a* et ne réagissent pas avec un autre antigène *b*. Mais par contre, si par injection d'autres extraits, de l'extrait *b* par exemple, on peut obtenir des sérums réagissant avec les antigènes *a* et *b*, on ne réussit pas à produire des sérums qui réagissent avec l'antigène *b* et non avec l'antigène *a* ; la spécificité distincte de l'antigène, en l'espèce l'antigène *b*, n'est donc pas définitivement prouvée, quoiqu'il soit connu que dans la majorité des cas, les extraits bactériens contiennent plusieurs antigènes distincts.

Par ailleurs, les anticorps de divers immun-sérums qui réagissent avec un certain antigène peuvent présenter, selon le sérum en cause, des différences dans leur affinité pour l'antigène. La quantité minima d'un antigène qui est suffisante pour donner une réaction positive est d'ordinaire la même avec divers sérums obtenus d'une manière semblable, mais il y a quelques sérums (souvent des sérums depuis longtemps conservés) qui réclament une plus grande quantité d'antigène pour une réaction positive. Il est possible, puisqu'il existe des différences dans l'affinité des anticorps pour l'antigène selon le sérum considéré, qu'il y ait entre les anticorps de divers sérums, des différences entraînant la conséquence suivante : à savoir que l'antigène soit capable de réagir avec les anticorps de certains sérums et non avec les mêmes anticorps d'un autre sérum. Il peut dans certains cas y avoir dans certains extraits antigènes des substances exerçant

une action inhibitrice sur la réaction avec certains sérums, et non sur la réaction avec d'autres. *Il est possible que certains changements chimiques, qui n'ont pas de rapport direct avec la spécificité de l'antigène, influencent la réaction avec certains sérums.*

***

Par ce bref exposé, on peut se rendre compte à quelles difficultés a pu se heurter L. DIENES dans l'exécution de son beau travail de *différenciation sérologique des antigènes tuberculeux*. L. DIENES employa la technique suivante : il se servit beaucoup de cobayes *préalablement tuberculeux* pour la production d'anticorps, et il injecta l'antigène dans la *lésion tuberculeuse*, car on a reconnu que les animaux déjà tuberculeux produisent des immun-sérums contenant plus d'anticorps que les animaux non préalablement infectés. Par cette méthode, DIENES a obtenu la formation d'anticorps réagissant avec des antigènes, vis-à-vis desquels chez le lapin, il ne se produit qu'une quantité très faible ou même nulle d'anticorps. Nous donnons ci-dessous, condensées dans le tableau 13, les différentes techniques employées par DIENES pour obtenir des sérums devant servir à la différenciation des lipoïdes antigènes du B. K.

Les sérums obtenus des cobayes déjà antérieurement tuberculeux sont *hautement spécifiques vis-à-vis de l'antigène employé pour le traitement. Il semble que l'injection d'un antigène donné à des cobayes tuberculeux, empêche, plutôt qu'elle ne favorise, la formation*

Tableau 13

Immun-sérums employés pour la différenciation sérologique des lipoïdes antigènes du B. K.

Techniques employées par L. Dienes pour l'obtention des Immun-sérums

Animaux	Techniques employées
Lapins	Inoculations répétées par voie intraveineuse ou sous-cutanée de B. K. humains vivants.
Cobayes	Cobayes tuberculeux traités avec des bacilles tuberculeux, tués par le chloroforme, légèrement broyés plusieurs fois, et lavés à l'eau. Injections *dans les lésions tuberculeuses.*
Cobayes	Cobayes tuberculeux traités avec des fragments bacillaires obtenus par légers broyages, et centrifugation complète de la culture, tués par le chloroforme. Injections *dans les lésions tuberculeuses.*
Cobayes	Cobayes tuberculeux traités avec l'extrait alcoolique à 75 % de bacilles tuberculeux secs, ayant subi antérieurement l'extraction par l'acétone. Injections *dans les lésions tuberculeuses.*
Cobayes	Même traitement que ci-dessus, mais par injections sous-cutanées.
Cobayes	Cobayes tuberculeux. Injections *dans les lésions tuberculeuses* d'extrait éthéré de l'extrait alcoolique à 75 % de B. K., traités préalablement par l'acétone.
Cobayes	Cobayes tuberculeux. Injections *dans les lésions tuberculeuses* de la substance soluble dans l'éther.

d'anticorps autres que l'anticorps spécifique vis-à-vis de l'antigène en question. On observe le même phénomène quand les cobayes tuberculeux sont injectés simultanément au niveau des ganglions tuberculeux de blanc d'œuf et de bacilles tuberculeux. Les sérums de ces cobayes réagissent beaucoup moins avec les antigènes des bacilles tuberculeux que les sérums des animaux chez lesquels on n'a pas injecté de blanc d'œuf.

L. Dienes employa uniquement la réaction de fixation du complément pour caractériser les antigènes. Pour rendre les résultats plus concordants, il adopta dans sa technique l'emploi d'une dose importante de complément et de sérum hémolytique ; mais de cette manière les réactions faibles ne sont pas observées.

L'auteur a pu, grâce aux divers immun-sérums qu'il a obtenus, comparer les unes aux autres les réactions obtenues avec divers sérums vis-à-vis d'antigène de complexités diverses. Il a été à même de caractériser nettement certaines fractions antigènes qu'il a extraites du bacille de Koch et qui, étant donnés les modes d'extraction dont nous avons rendu compte plus haut (voir page 209), sont des complexes assez mal définis, mais qui renferment suivant les différents cas une quantité plus ou moins grande de lipoïdes purs, additionnée ou non de constituants protéiques en plus ou moins grande quantité, et de constituants polysaccharides (voir par comparaison les diverses substances susceptibles d'être extraites par les divers solvants suivant les méthodes de Goris d'une part, de R. J. Anderson de l'autre. Tableau 6, p. 33 et tableau 10, p. 47).

Notons d'ailleurs que L. DIENES a également pratiqué des extractions par l'eau et par une solution sodique faible, qui avaient pour effet d'extraire les fractions protéiques ; il a étudié ces fractions selon les mêmes méthodes, et nous rendrons compte plus loin des résultats qu'il a obtenus. Il a étudié de la même manière la valeur antigène de la substance hydrocarbonée précipitable de LAIDLAW et DUDLEY (voir p. 74).

***

CONCLUSION. — La conclusion générale qui se dégage des travaux de L. DIENES est la même que celle à laquelle sont arrivés BOQUET et NÈGRE :

Les modifications qualitatives et quantitatives que déterminent les bacilles tuberculeux et leurs extraits sont d'autant plus intenses que les substances injectées sont chimiquement plus complexes et plus riches en protéïnes bacillaires.

La constitution antigène du B. K. est extrêmement complexe. L. DIENES a *pu mettre en évidence 7 à 11 groupements doués de propriétés antigènes qui possèdent des propriétés chimiques et sérologiques notablement différentes.* Ces groupes antigènes particuliers ont d'ailleurs peut-être ÉTÉ CRÉÉS, notons-le, *du fait du mode d'extraction adopté.* Il est probable d'ailleurs, ainsi que le remarque L. DIENES, qu'un travail ultérieur révèlerait la présence d'un plus grand nombre de groupes antigènes et nécessiterait un nouveau classement des groupes actuellement créés. Pour L. DIENES, la notion de la complexité de la structure antigène et la consta-

tation de propriétés nettement différentes pour chacun des divers antigènes (spécificité antigénique différente, pouvoir antigénique plus ou moins complet, intégral ou partiel), est d'un très grand intérêt. Elle confirme les conceptions de ZINSSER, concernant la constitution antigénique de la cellule bactérienne (nous avons exposé ces conceptions aux pages 96, 97, 98, 99 et 100) :

Une fraction importante de l'antigène bactérien, à un certain degré de purification, a seulement un effet léger ou n'a pas d'effet antigénique *in vivo*, c'est-à-dire d'effet antigénique provocateur. *L'effet antigénique* in vivo *est d'habitude dévolu à des groupes plus complexes d'antigènes, dans lesquels les substances protéiques semblent jouer un rôle important.*

Selon les observations de L. DIENES, il y a dans le bacille tuberculeux plusieurs antigènes protéiques et non protéiques qui *ont des caractéristiques d'haptènes*, et aussi plusieurs complexes antigènes qui ont des effets antigéniques provocateurs prononcés *in vivo*.

Dans les extraits des bacilles tuberculeux, obtenus avec l'alcool éthylique à différents degrés, et avec l'alcool méthylique, DIENES trouva 6 antigènes différents, mais trois d'entre ceux-ci seulement étaient bien caractérisés et bien séparés des autres. La production d'anticorps est plus forte avec des bacilles intacts et les fragments bacillaires broyés. Il y a une différence nette entre les sérums obtenus avec l'émulsion de bacilles vivants, et ceux obtenus avec l'émulsion de bacilles morts.

En ce qui concerne l'action produite par les différents antigènes, DIENES a constaté que selon l'antigène

provocateur employé, des quantités variées d'anticorps sont présentes dans les immun-sérums obtenus : quelquefois les anticorps des protéines prédominent et les anticorps des lipoïdes ne sont pas formés ou sont formés seulement en petite quantité. Dans le cas d'autres sérums, c'est le contraire qui se produit.

Deux des antigènes individualisés par DIENES *à partir du B. K. n'entraînent pas de formation d'anticorps lorsqu'ils sont inoculés à l'animal.*

Dans les sérums produits par les substances que DIENES qualifie de lipoïdes, un certain taux d'anticorps des protéines est ordinairement présent. Avec les progrès de la purification, *l'effet antigénique* in vivo *décroît beaucoup pour la majorité des préparations antigènes, ou disparaît.*

L'emploi de cobayes déjà tuberculeux pour la production d'anti-sérums par injections d'antigène est de grande utilité pour la différenciation des antigènes et pour l'étude des effets antigéniques *in vivo*.

***

Nous venons de voir d'après tous les travaux qui précèdent combien sont intimement liés le pouvoir antigénique des lipoïdes et celui des protéines, les lipoïdes n'exerçant vraisemblablement qu'une action activante sur l'antigénie des protéines auxquelles est peut être uniquement dévolu l'effet antigénique *in vivo*, l'antigénie provocatrice. L'antigénie réceptrice pourrait par contre être l'apanage, en dehors de fractions pro-

téiques et lipoïdo-protéiques, de fractions uniquement lipoïdes, susceptibles de jouer le *rôle d'haptènes*.

Il nous faut maintenant entreprendre l'étude des actions histopathologiques, physiopathologiques et antigéniques exercées par les fractions protéiques du B. K., et par les fractions polysaccharides.

CHAPITRE III

ACTIONS HISTOPATHOLOGIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIQUE DES FRACTIONS PROTÉIQUES DU BACILLE DE KOCH ET DES FRACTIONS POLYSACCHARIQUES.

Nous avons étudié, on s'en souvient, dans la première partie de cet ouvrage, les divers modes de préparation utilisés par les différents auteurs pour extraire du B. K. et de son milieu de culture les fractions protéiques spécifiques faisant partie du corps microbien ou ayant diffusé dans le milieu de culture.

Si nous avons prouvé avec R. F. Le Guyon qu'il existait indiscutablement un produit exomicrobien, ultrafiltrable, pouvant diffuser dans le milieu de culture, le bacille étant vivant, et n'ayant subi aucun traitement particulier, nous avons montré cependant qu'il n'existait aucune différence fondamentale entre les éléments protéiques solubles dans l'eau, ou dans les solutions alcalines faibles (solutions sodiques), propres au corps bacillaire lui-même, et les produits microbiens ayant diffusé dans les milieux de culture, une fraction des uns et des autres pouvant être douée de propriétés tuberculiniques.

Nous avons décrit au début de cet ouvrage (p. 16) le mode opératoire complexe adopté par AUCLAIR et PARIS. Ces auteurs faisaient agir sur les bacilles dégraissés de l'acide acétique concentré ; cet acide, d'après eux, contrairement aux acides minéraux et aux alcalis caustiques ne modifieraient pas profondément le protoplasma bacillaire. AUCLAIR et PARIS étaient arrivés après des manipulations, dont nous avons rendu compte, à isoler une substance complexe et surtout protéique, qu'ils avaient nommée bacillo-caséïne, et à laquelle ils avaient trouvé des propriétés biologiques particulières. Ces propriétés sont intéressantes. Malheureusement le degré de purification de la substance n'était peut être pas tout à fait suffisant et surtout la technique opératoire adoptée était un peu brutale et susceptible de modifier les protéines initiales. On pourrait en dire autant d'autres préparations telles que la nécro-tuberculine d'OSTROWSKI (voir note 119, p. 163).

Quoi qu'il en soit, et bien qu'il soit difficile de tirer des conclusions absolues touchant l'action physiologique des protéines bacillaires, en se basant sur l'action observée avec la bacillo-caséine d'AUCLAIR et PARIS, il importe cependant de mentionner les résultats auxquels ces auteurs sont parvenus.

La bacillo-caséine produit à la fois des effets locaux et généraux : poison local elle détermine à son point d'injection et dans les organes où elle a été charriée par les leucocytes des nodosités inflammatoires, formées de l'afflux de polynucléaires en majorité d'abord, puis de cellules mononucléaires. Ces lésions

coexisteraient avec la métamorphose épithélioïde d'un certain nombre de cellules fixes de divers organes, du foie en particulier. Mais cette transformation épithélioïde n'aboutirait *ni au développement des tubercules, ni à la fonte caséeuse, ni à la sclérose*, lésions qu'Auclair attribuait uniquement aux matières adipo-cireuses du B. K. La lésion locale succède rapidement à l'injection de la bacillo-caséine. Elle peut se résorber entièrement dans certains cas. L'intoxication générale se produit lentement ; elle peut survenir sous l'influence de faibles doses du poison. *Elle ne paraît se manifester qu'après la désintégration de la bacillo-caséine par les cellules de l'organisme.*

Elle est caractérisée par un amaigrissement progressif, une cachexie profonde aboutissant le plus souvent à la mort. Le cobaye est particulièrement sensible à cette intoxication. Il peut mourir à la suite de l'injection de $^1/_2$ milligramme (141), et des jeunes animaux ont succombé après avoir reçu $^1/_4$ de milligramme. La bacillo-caséine ne modifie pas, d'après Auclair, la température des animaux sains ou tuberculeux. Auclair ne dit pas nettement si elle a un effet particulièrement toxique pour le cobaye tuberculeux ; elle doit pourtant contenir des éléments tuberculiniques. Elle semble dans l'injection préventive répétée à faibles doses chez le cobaye avoir été susceptible de retarder légèrement l'évolution de la tuberculose.

La conclusion générale à tirer des recherches d'Au-

(141) La bacillo-caséine était inoculée soit finement triturée, émulsionnée dans l'eau pure stérilisée, soit dissoute dans l'eau phosphatée sodique au 1 /100.

CLAIR, c'est *l'effet toxique général* de la fraction en grande partie protéique qu'il a réussi à isoler.

Quoique très riches en enseignements les recherches d'AUCLAIR ont été aujourd'hui dépassées par les travaux des auteurs modernes, qui ont pu expérimenter avec des produits un peu plus nettement définis.

***

GORIS, on s'en souvient (voir tableau 1, p. 23), était parvenu à isoler du résidu bactérien insoluble dans le chloroforme, deux fractions, dont l'une constituée par un précipité de substance albuminoïde : fraction VI était douée des mêmes propriétés que celles de la tuberculine brute, et l'autre, fraction VII, non douée de ces propriétés, était constituée, semble-t-il, d'après GORIS, par des acides aminés (l'analyse chimique de cette fraction n'a pas été poussée très loin). Les essais biologiques de ces diverses fractions n'ont pas été poursuivis.

Il nous faut arriver aux travaux des auteurs modernes, surtout américains, pour avoir une notion plus étendue et plus précise du rôle physiopathologique, histopathologique et antigénique des fractions protéiques du B. K.

Nous avons rendu compte dans la première partie de cet ouvrage, des travaux de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN. Ces auteurs ont employé, on s'en souvient, une technique rappelant par certains côtés celle employée autrefois par AUCLAIR et PARIS, pour la préparation de la bacillo-caséine, mais moins brutale, et poussant plus loin et précisant l'individualisation des fractions protéiques. JOHNSON et BROWN

sont parvenus, on s'en souvient, à extraire des substances protéiques et nucléoprotéiques du B. K. deux produits (voir tableau 11, p. 62).

Un produit donné par hydrolyse protéique par la soude, soluble dans l'acide acétique, précipité par l'alcool et constitué par un acide nucléique particulier, appelé par les auteurs *acide tuberculinique*.

Et un résidu constitué par des acides aminés.

Par ailleurs R. D. Coghill (voir tableau 11, p. 62) a extrait des protéines du B. K. deux fractions :

Une fraction protéique, soluble dans l'eau, qui précipite de sa solution aqueuse à froid par l'acide acétique dilué après centrifugation, douée de propriétés dites tuberculiniques, et contenant donc vraisemblablement l'acide tuberculinique de T. B. Johnson et E. B. Brown.

Et une fraction protéique alcali-soluble, qui n'a pas d'action tuberculinique.

D'autre part, nous avons mentionné dans la première partie (voir p. 59 et suivantes) que T. B. Johnson, R. D. Coghill et E. B. Brown, T. B. Johnson et A. G. Renfrew avaient aussi préparé des protéines plus complexes, mais ayant subi moins de manipulations que les fractions précédemment énumérées ; elles n'étaient pas par conséquent dénaturées : c'étaient les protéines 304 et 903, 304 A et 304 B, solubles dans l'eau, les deux dernières dérivant du résidu restant après l'extraction des substances lipoïdo-cireuses pratiquée par R. J. Anderson avec l'alcool-éther (voir tableau 7, p. 37).

Toutes ces fractions contiennent *d'ailleurs toutes probablement des éléments adipo-cireux*. La fraction 903 contient vraisemblablement une plus forte concentration en protéine pure que la fraction 304.

***

C. A. Doan, F. R. Sabin (142) et leurs collaborateurs

(142) *a*) Ch. A. Doan, F. R. Sabin et Claude E. Forkner, *Reaction of the connective tissues of the normal rabbit to a water-soluble*

ont étudié les propriétés biologiques des protéines 304, 903, 304 A et 304 B, et de la fraction protéique alcali-soluble de R. D. Coghill.

Ils ont inoculé ces substances en solution dans l'eau par voie intraveineuse à des lapins sains et à des lapins tuberculeux, par voie intra-péritonéale et sous-cutanée à des cobayes sains et à des cobayes tuberculeux.

Ils ont aussi pratiqué les mêmes inoculations avec un autre extrait protéique du B. K., fourni par la compagnie H. K. Mulford et présenté sous la désignation M. A.-100, mais sur laquelle des détails de préparation ne sont pas fournis. Cette dernière protéine donne des cuti-réactions chez le cobaye tuberculeux aux doses de 0 mg. 0001. Les auteurs américains sont arrivés aux résultats suivants : inoculées par voie intrapéritonéale à des lapins sains, les protéines du B. K. ne donnent pas naissance à du *tissu tuberculaire* (voir p. 168 la définition de ce terme). Ces substances sont solubles dans l'eau, et par conséquent il est peu probable qu'elles demeurent localisées dans les tissus sous-séreux comme les lipoïdes. Leur passage à travers un tissu tel que le péritoine n'est toutefois pas indifférent.

Des lapins sains au nombre de 4 sont inoculés quo-

protein and a polysaccharide from the tubercle bacillus, strain H 37 ; *spontaneous pseudo-tuberculosis aspergillina as a complication in fraction testing* (Journ. Exp. Med., t. XLII, n° 6, 1er déc. 1930, supplément n° 3, Studies on tuberculosis p. 73).

b) F. R. Sabin, Franklin R. Miller, Charles A. Doan et Bruce K. Wiseman, *A study of the toxic properties of tuberculo-proteins and polysaccharides* (*Journ. Exp. Med.*, t. XLIII, n° 1, 1er janv. 1931, p. 51).

tidiennement par voie intra-péritonéale avec la protéine 304 B. Cette protéine était en solution saturée et injectée à la dose journalière de 20 milligrammes, dissouts dans 10 cc. d'eau. Un des lapins mourut 3 jours après la neuvième dose. Les animaux ont présenté en général au niveau du péritoine un afflux de polynucléaires et de clasmatocytes. Quelques rares cellules avaient pris l'aspect épithélioïde. Par place on constatait de petits abcès et des lésions hémorragiques.

Les poumons étaient congestionnés avec augmentation des éosinophiles dans le sang des capillaires. Il y avait quelques hémorragies dans la moëlle osseuse. Au niveau de la rate et de la moëlle osseuse, il y avait une augmentation de clasmatocytes contenant du pigment jaune.

En somme la réaction la plus constante pour tous les animaux sains était *l'afflux polynucléaire* au niveau du péritoine et *des hémorragies*.

Inoculées par voie intraveineuse, les protéines du B. K. solubles dans l'eau (telles que 304 et 903) sont, quand elles ne sont pas dénaturées par des traitements chimiques trop actifs, toxiques pour les lapins *sains*, entraînant de la fièvre, et causant des lésions hémorragiques au niveau des divers organes. L'animal maigrit et perd l'appétit. Mais ces protéines ne sont pas mortelles pour le lapin sain, à condition qu'elles ne soient pas administrées à doses massives. Injectées par voie intra péritonéale à des animaux sains, leur effet toxique général est moindre. Par contre, *toutes les fractions protéiques sont, avec cependant des différences légères de degrés selon les préparations, très toxiques pour*

les cobayes tuberculeux, chez lesquels elles produisent aussi une élévation thermique (*effet tuberculinique*). Les cobayes tuberculeux meurent rapidement après l'injection intrapéritonéale de faibles doses de protéine 304 par exemple.

La protéine alcali-soluble de R. D. Coghill est également toxique pour le cobaye sain et cause aux doses non mortelles une élévation thermique.

***

Les réactions locales et générales aux protéines bacillaires complexes étant connues, il nous a semblé intéressant d'étudier les réactions cellulaires du cobaye sain et du cobaye tuberculeux après injection intrapéritonéale de ce complexe qu'est la tuberculine ancienne de Koch. Nous avons entrepris cette recherche en collaboration avec R. F. Le Guyon.

Réactions cellulaires du cobaye après injection intrapéritonéale de tuberculine brute (143)

(*Expériences personnelles.*)

Nous avons donc inoculé à des cobayes sains par voie intrapéritonéale 2 cc. de tuberculine brute Pasteur soit pure, soit diluée au 1/10. L'exsudat périto-

(143) R. F. Le Guyon et J. Albert-Weil (C. R. *Soc. Biol.*, t. CVI, p. 1065, 16 avril 1931 : *Soc. de biol. de Strasbourg*, séance du 13 mars 1931).

néal a été prélevé à la pipette et examiné après coloration.

6 heures après l'inoculation, il y a une forte réaction polynucléaire avec présence de quelques cellules mononucléaires. On n'observe à ce stade aucune dégénérescence des polynucléaires.

24 heures après : très forte réaction cellulaire. Très nombreux polynucléaires, quelques-uns présentent des signes de dégénérescence (noyau en picnose) ; nombreux macrophages, certains ayant déjà phagocyté des polynucléaires en picnose.

48 heures après : La réaction cellulaire a considérablement diminué. Présence de macrophages ayant phagocyté des polynucléaires en picnose. Quelques polynucléaires dégénérés.

72 heures après : Réaction cellulaire faible. Quelques macrophages. Les jours suivants, 4^{e}, 5^{e}, 6^{e}, 7^{e} jour, persiste une faible réaction cellulaire avec légère mononucléose.

Des cobayes tuberculeux de 30 à 40 jours inoculés avec la même tuberculine sont tués vers la 6^{e} ou 7^{e} heure. A la sixième heure, il y a une sérosité abondante à polynucléaire. La réaction cellulaire du cobaye sain après injection de tuberculine se rapproche donc beaucoup de celle que l'on observe chez le cobaye de primo-infection tuberculeuse. La tuberculine est, il est vrai, un produit complexe contenant, outre les poisons bacillaires, les protéines du bouillon, et la glycérine, le tout réduit au 1/10 par chauffage. Ces différents produits exercent à eux seuls une réaction cellulaire. Toutefois c'est à la présence de principes actifs tuber-

culiniques que sont dues les particularités de la réaction cellulaire, et ce qui mérite le plus d'être souligné, c'est que la picnose des polynucléaires se produit après inoculation de la tuberculine *seule*.

Il est possible que dans l'infection tuberculeuse ce soit **pour une part** la *tuberculine* ou plutôt les protéines complexes, *contenant les principes actifs de la tuberculine secrétées par les B. K. vivants ou en diffusant, qui agissent comme poisons sur les polynucléaires et provoquent leur picnose.* (A noter qu'on n'observe pas de picnose après injection d'antigène méthylique dans le péritoine du cobaye.)

Actions histopathologique et physiopathologique des fractions polysaccharides isolées du B. K.

En dehors des fractions protéiques, les auteurs américains Doan, Sabin et Forkner (144) ont aussi étudié l'action biologique de la fraction polysaccharique A_8 isolée par R. J. Anderson (voir tableau 7, p. 37 et tableau 8, p. 45).

Inoculée par voie intra-péritonéale au lapin, cette fraction a entraîné un afflux de polynucléaires neutrophiles émigrés des vaisseaux, suivi d'un afflux de clasmatocytes, qui viennent phagocyter les polynucléaires.

Chaque nouvelle injection de polysaccharides entraîne un nouvel afflux polynucléaire suivi ultérieurement d'un

(144) *Journ. Exp. Med.*, t. LII, n° 6, 1er décembre 1930, Supplément n° 3, p. 79.

nouvel afflux clasmatocytaire. Elle est donc *irritante.* Injectée par voie intraveineuse, cette fraction n'est pas toxique pour l'animal sain.

Par contre W. C. White (145) a constaté que de faibles doses de polysaccharide A_8 entraînait fréquemment la mort par injection intraveineuse et intrapéritonéale chez le cobaye *tuberculeux.* Les animaux présentaient une chute progressive de pression sanguine, et leur température depuis le moment de l'injection baisse jusqu'à leur mort ; on aurait trouvé à l'autopsie des modifications des surrénales. L'explication de ce fait n'a d'ailleurs pas été donnée et nécessite des études ultérieures.

A l'opposé de ces résultats, Doan, Sabin et Forkner auraient provoqué dans quelque cas, à la suite d'inoculation intra-péritonéale de la polysaccharide à des cobayes tuberculeux, une élévation thermique transitoire de 1° 1 /2 environ.

Par ailleurs la dose mortelle de polysaccharide, nécessaire pour tuer un cobaye tuberculeux, n'est jamais aussi constante que la dose mortelle des protéines du bacille.

Doan, Sabin et Forkner ont inoculé, par comparaison, du glucose d'une part, et d'autre part une polysaccharide isolée du pneumocoque par Avery et Goebel (voir p. 96, 97 et 98, sucre du type III du pneumocoque) à des cobayes tuberculeux. Après l'inoculation, il y avait comme pour la polysaccharide A_8, un afflux polynucléaire local dans les premières heures suivant

(145) W. C. White, *Tr. Assn. Am. Phys.*, 1928, t. XLIII, p. 311.

l'inoculation soit de glucose soit de polysaccharide du type III du pneumocoque. Mais la température demeurait constante après le glucose, et s'élevait après la polysaccharide du pneumocoque. Dans aucun cas les animaux ne mouraient s'il n'y avait pas chute brusque de température dans les jours qui suivaient. Par contre tous les animaux tuberculeux inoculés avec la polysaccharide du B. K. mouraient après 24 ou 48 heures.

L'étude de l'action des polysaccharides du B. K. sur les cobayes tuberculeux nécessite encore des études complémentaires. On sait en effet que la polysaccharide contient de l'azote probablement sous forme d'une protéine, et l'on ne peut encore savoir si la polysaccharide est toxique par elle-même pour le cobaye tuberculeux, ou en tant que vectrice d'une protéine. Cette protéine serait à trop faible dose pour pouvoir tuer par elle-même le cobaye, mais elle verrait peut-être sa toxicité exaltée par la polysaccharide.

***

Réactions cellulaires et état allergique

Quoi qu'il en soit, il ressort de toutes ces études que *seules* les fractions protéiques extraites des corps bacillaires, *lorsqu'elles n'ont pas été dénaturées et dégradées* par les manipulations chimiques, sont toxiques pour l'animal sain. Les mêmes fractions protéiques sont toxiques à un beaucoup plus haut degré encore pour l'animal tuberculeux. La fraction polysaccharique est également toxique dans certaines conditions pour l'ani-

mal tuberculeux, mais *à des doses moins constantes.* L'élévation thermique chez les lapins et les cobayes tuberculeux est seule *constamment* causée par l'inoculation des fractions protéiques du B. K., et très irrégulièrement ou pas du tout par l'inoculation des fractions dites polysaccharides (A_S) qui contiennent probablement trop peu d'azote protéique pour entraîner une réaction thermique. Les protéines et les polysaccharides causent toutes deux lorsqu'elles sont injectées à l'animal une leucopénie sanguine suivie rapidement d'une leucocytose sanguine, et des réactions leucocytaires locales. La sensibilisation très marquée de l'organisme tuberculeux à une protéine spécifique et à une polysaccharide extraite du B. K. semble établir *un rapport étroit entre ces substances solubles et l'état allergique.* Les fractions lipoïdes semblent absolument étrangères par elles-mêmes seules à l'état allergique. Pourtant elles jouent un rôle important, nous l'avons vu, pour la formation des tubercules. Il semble donc que dans la maladie tuberculose, *la formation des tubercules soit une réaction absolument distincte d'une réaction allergique.*

A l'appui de ce fait nous devons apporter une observation de Doan, Sabin et Forkner qui ont constaté chez plusieurs lapins ayant reçu tantôt une fraction protéique du B. K., tantôt diverses fractions lipoïdes ou grasses, la survenue accidentelle d'une pseudotuberculose aspergillaire, ayant entraîné la formation de lésions (tubercules, etc...) absolument analogues à des lésions tuberculeuses vraies (mais dans aucun cas bien entendu on ne pouvait déceler des bacilles acido-

résistants). Dans aucun cas un état allergique quelconque ne fut constaté (cuti, intradermoréactions négatives à la tuberculine, etc...). *Il semble se confirmer d'après ces faits, que dans la tuberculose, les réactions allergiques ne dépendent pas de la lésion cellulaire, du tubercule en soi, mais sont liées vraisemblablement à la présence des protéines spécifiques les plus solubles et peut-être de polysaccharides.*

Il est à noter par ailleurs, que certaines fractions protéiques complexes et *non dégradées* du B. K. peuvent faire apparaître lorsqu'elles sont inoculées à l'animal un état de sensibilisation allergique plus ou moins transitoire. Nous reviendrons sur cette question quand nous rendrons compte des recherches de ZINSSER, concernant les conditions d'apparition de la sensibilité tuberculinique (voir p. 241).

Tous ces faits nous amènent maintenant à parler du rôle antigène possible des fractions protéiques et polysaccharides du B. K., et ultérieurement à aborder l'importante question des réactions dites tuberculiniques, et à préciser ce qu'on entend par *allergie dans la tuberculose.*

CHAPITRE IV

LE ROLE ANTIGÈNE DES FRACTIONS PROTÉIQUES ET POLYSACCHARIQUES DU BACILLE DE KOCH

Il ressort des recherches de L. Dienes, et de ses prédécesseurs que les fractions protéiques du B. K. exercent une action antigénique provocatrice *in vivo* (décelée par la réaction de fixation du complément) *d'autant plus grandes qu'elles sont plus complexes et moins altérées par les diverses manipulations*. L. Dienes a pu isoler par ailleurs du B. K. des fractions protéiques plus simples jouant simplement le rôle d'*haptènes*. Il semble que les préparations de L. Dienes contenant surtout des antigènes protéiques exercent habituellement une action antigénique plus forte *in vivo* que celles contenant surtout des antigènes lipoïdes. Ces derniers lipoïdes peuvent d'ailleurs, ainsi qu'il est vraisemblable, nous l'avons vu, s'ils sont mélangés ou unis à des protéines, exercer une action activante sur le pouvoir antigénique de ces dernières.

L. Dienes a préparé divers extraits bacillaires après dégraissage soigneux des bacilles par les solvants habituels des graisses (éther, chloroforme) : des extraits

aqueux, et des extraits par une solution diluée de soude. De ces préparations il a pu précipiter, de plus, diverses fractions protéiques par différentes techniques dans le détail desquelles nous ne pouvons entrer ici (146) (adjonction, à divers taux, à la solution alcaline, d'HCl dilué à différents *p*H. L'individualisation chimique des fractions obtenues ne fut pas entreprise. Aucune des fractions obtenues n'avaient, bien entendu, le même point iso-électrique). Certaines des préparations ainsi obtenues par DIENES entraînaient, lorsqu'elles étaient inoculées à l'animal la formation d'anti-sérums, réagissant avec les protéines bacillaires, et non avec les antigènes lipoïdiques bacillaires. D'ailleurs selon les diverses préparations inoculées à l'animal en vue de la production des anti-sérums, et selon les quantités variables d'antigènes protéiques et lipoïdiques qu'elles contenaient, on obtenait des sérums contenant plus ou moins d'anticorps vis à vis des lipoïdes ou des protéines. Par ailleurs les anti-sérums obtenus par DIENES réagissaient non seulement avec la protéine antigène homologue, mais encore avec la plupart des autres extraits protéiques du même auteur, à l'exception d'une seule fraction protéique qui réagissait seulement avec un petit nombre de sérums. Il semble ressortir de ces derniers faits que les extraits protéiques bacillaires préparés par L. DIENES contiennent non seulement des antigènes qui sont particuliers à chacun d'eux, mais encore des éléments antigènes qui leur sont communs.

(146) Voir L. DIENES, *Antigenic substances of tubercle Bacillus* (*Journ. of. Immunology*, août 1929, t. XVII, n° 2, p. 104 et suivantes).

***

Par ailleurs L. DIENES, rechercha les effets antigéniques d'une fraction polysaccharique analogue à celle obtenue par LAIDLAW et DUDLEY (voir p. 74) à partir de la tuberculine brute. Il put observer une réaction de précipitation *in vitro* avec des anti-sérums de lapin obtenus par inoculation de bacilles humains vivants, et avec des anti-sérums de cobayes obtenus par inoculation de bacilles morts.

Après inoculation de certaines fractions *impures* contenant la fraction polysaccharique, on obtient des sérums donnant une réaction de précipitation, mais l'effet antigénique provocateur *in vivo* semble dû à la protéine contenue dans l'extrait. On n'obtient pas d'effet *in vivo* avec la fraction polysaccharique purifiée. De même la fraction polysaccharique impure est plus active *in vitro* que la fraction purifiée, de telle sorte qu'on ne peut même conclure avec certitude que c'est à la fraction polysaccharique *seule* qu'est dû l'effet antigénique *in vitro*.

Il semble donc, tant en ce qui concerne les fractions dites lipoïdiques, qu'en ce qui concerne les fractions dites polysaccharques, que ce soit toujours l'élément protéique qui joue le rôle antigène le plus important : *les protéines du B. K. sont les véritables antigènes tuberculeux.*

***

Nous avons vu *que ce que l'on est convenu d'appeler tuberculine* et tous les principes qui en ont été extraits

n'ont que peu ou pas d'effet antigénique *in vivo* : on n'a jamais pu obtenir la formation d'anticorps dans un sérum animal par injection préalable de tuberculine ou de ses dérivés.

L'acide tuberculinique de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN (voir p. 57 et suivantes et tableau 11 p. 62) n'a vraisemblablement pas d'effets provocateurs *in vivo* : *plus le fractionnement protéïque est poussé loin, et plus le produit obtenu s'éloigne du complexe originel, moins l'effet antigénique est étendu.* L'effet antigène devient de plus en plus incomplet (*partigènes de Much*).

Les observations qui ont été faites concernant l'effet antigénique provocateur *in vivo* des différents constituants du bacille tuberculeux, s'accordent parfaitement avec les conceptions de ZINSSER sur la structure antigène des bactéries (voir p. 96 et suivantes). La plupart des antigènes très actifs *in vitro* sont actifs *in vivo* seulement lorsqu'ils sont incorporés à leurs complexes originels et ne sont pas actifs *in vivo* quand ils sont isolés. Dans le bacille tuberculeux on peut individualiser plusieurs fractions protéiques douées à des degrés divers d'activité antigénique *in vivo*, et par ailleurs on peut en extraire d'autres fractions tant protéiques que lipoïdiques qui n'agissent qu'en tant qu'*haptènes*.

L'antigène tuberculeux intégral, celui qui a le pouvoir antigénique le plus étendu est constitué par le bacille tuberculeux lui-même, par le bacille mort, et surtout et à un plus haut degré par le bacille vivant. Chaque espèce de bacilles, humains, et aviaires possède en ce qui concerne la formation d'anticorps la spécificité dans une certaine mesure.

***

Nous avons envisagé un peu plus haut les fonctions *haptènes* de certaines fractions protéïques du B. K. Ces fonctions ont été mises en évidence, nous l'avons vu, par des réactions diverses : réaction de précipitation, réaction de fixation du complément, mais on se souvient que nous avons placé dans le cadre des réactions antigéniques ou à côté d'elles, en dehors des réactions pratiquées *in vitro*, des réactions mises en œuvre *in vivo* à savoir les cuti, intradermo, ophtalmo-réactions, etc. Il nous faut, à ce propos, nous étendre quelque peu maintenant sur ces dernières réactions, sur leurs conditions d'apparition, leur signification, et sur ce qu'on appelle sensibilisation ou allergie dans la tuberculose.

CHAPITRE V

LES RÉACTIONS TUBERCULINIQUES DANS LEURS RAPPORTS AVEC L'ALLERGIE TUBERCULEUSE. DÉFINITION DE L'ALLERGIE. RELATIONS EXISTANT ENTRE L'ACTIVITÉ TUBERCULINIQUE ET LES PROPRIÉTÉS ANTIGÈNES

Nous avons vu qu'aucun des extraits lipoïdiques purifiés du B. K. ne peuvent faire naître chez l'animal après l'inoculation la sensibilité tuberculinique. D'autre part, aucun extrait lipoïde suffisamment pur ne donne de cuti ou d'intradermo-réactions positives chez un animal sensibilisé, présentant par ailleurs des cutiréactions positives à la tuberculine. On sait aussi qu'il en est de même avec les préparations purifiées de polysaccharides bacillaires : aucune de ces préparations n'est susceptible de faire apparaître de sensibilité tuberculinique, aucune ne donne de cuti ou d'intradermoréactions positives chez l'animal déjà sensibilisé. Ce sont les fractions protéiques du bacille de Koch et elles seules, qui lorsqu'elles sont suffisamment complexes, sont susceptibles de faire apparaître une sensibilité tuberculinique quand elles sont injectées à l'animal. *Il est à noter cependant qu'il est plus difficile de sensibiliser un animal avec des fractions protéiques du bacille*

qu'avec les bacilles entiers eux-mêmes, qui constituent surtout lorsqu'ils sont vivants, nous l'avons dit, l'antigène intégral le plus puissant. Ce sont uniquement des fractions protéiques, d'autre part, qui peuvent donner chez l'animal déjà sensibilisé, des cuti ou intradermoréactions positives. Toutefois il est possible que les lipoïdes exercent une action activante sur les tuberculines. D'après H. Bing et V. Kellermann (147) certaines phosphatides auraient la propriété d'augmenter les effets toxiques de la tuberculine pour les organismes tuberculeux.

Cette propriété *activante* serait surtout manifeste pour une diamidophosphatide du jaune d'œuf, l'*albine*. La lécithine, la céphaline, la cholestérine, l'acide oléique, l'oléate de soude et les autres lipoïdes du jaune d'œuf ou des sérums n'exerceraient pas la même action.

***

C'est uniquement après les travaux de H. Zinsser et Petroff (S. A.) (148) qu'a été démontrée nettement la possibilité de créer une hypersensibilité tuberculinique sans injection préalable de bacilles vivants chez le cobaye. Ces auteurs sont arrivés après de nombreuses expériences aux conclusions suivantes :

1° La réactivité cutanée à la tuberculine, à la fois

(147) *Biochem. Zeitschr.*, 1912, t. XLII, p. 289. Cités par Calmette : *L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux*, 1928, p. 553.

(148) Zinsser (H) et Petroff (S. A.), *Tuberculin hypersensitiveness without infection in guinea-pigs* (*Journ. of Immunol. Baltimore*, 1924, t. IX, p. 85-87).

aux antigènes extraits de la vieille tuberculine (voir travaux de H. MUELLER, p. 75 et suivantes), et à la vieille tuberculine peut être obtenue chez les cobayes par inoculation de bacilles morts.

2° Le chauffage à 100° ne détruit pas les propriétés des bacilles produisant la réaction.

3° Si on a injecté des quantités suffisantes de bacilles, la réaction apparaît presque aussi rapidement qu'après injection de bacilles vivants et presque aussi intensément.

4° Autant qu'on en puisse juger, il semble y avoir un parallélisme général entre l'étendue de la réaction locale aux bacilles injectés, et le degré de la sensibilité tuberculinique.

Ce dernier fait n'implique pas cependant que la production de réactions cellulaires, et de lésions locales, et les formations de tubercules, soient des conditions nécessaires pour l'apparition de la sensibilité tuberculinique ; nous avons vu dans les précédents chapitres que de nombreuses formations dites tuberculaires, ne s'accompagnent d'aucune sensibilisation tuberculinique chez l'animal qui en est porteur (Voir pages 232 et 233).

Dans le cours de la *tuberculose-maladie*, l'étendue des lésions dépend dans une certaine mesure du nombre des bacilles infectants, qui, sous l'action des processus de digestion cellulaire plus ou moins complète, libèrent des fractions lipoïdes et des fractions protéiques. La libération des fractions protéiques et l'action antigène de ces fractions sont donc corollaires dans une certaine mesure de l'étendue des lésions locales ; aussi est-il tout naturel qu'il y ait parallélisme entre étendue

de la réaction locale aux bacilles injectés et le degré de la réaction tuberculinique, *cette réaction locale n'étant pas cependant la condition nécessaire et suffisante pour qu'apparaisse l'état allergique.*

***

Rappelons pour mémoire les principales fractions douées de propriétés tuberculiniques qui ont été individualisées à partir de la tuberculine brute de Koch, à partir du milieu de culture synthétique sur lequel avait poussé des bacilles, et à partir des protéines bacillaires elles-mêmes par les divers auteurs (voir p. 71 et suivantes et tableau 11, p. 62).

A partir de la tuberculine :

1° H. Mueller : *a*) Substance donnant des cuti-réactions positives chez les animaux tuberculisés. Contient vraisemblablement acide tuberculinique de Johnson et Brown.

b) *Antigène résiduel de la vieille tuberculine* : pas de cuti-réactions, mais réaction de précipitation en présence d'un sérum précipitant.

On se souvient de la conclusion à laquelle était arrivé H. Mueller à savoir que les 2 fractions au moins qui peuvent être isolées à partir de la tuberculine sont douées chacune de propriétés biologiques particulières et que par conséquent la tuberculine ne peut être titrée par les réactions de précipitation et de fixation du complément ; dans ces dernières méthodes en effet interviennent des facteurs différents de ceux qui déterminent les réactions cutanées.

D. Laidlaw et Dudley : Complexe hydrocarboné du groupe des pentioses, ne donne pas de cuti-réactions, donne réaction de précipitation avec sérum précipitant de cheval.

A partir des protéïnes bacillaires :

III° T. B. Johnson et E. B. Brown : *a*) acide tuberculinique : propriétés tuberculiniques.

a) Résidu : ne donne pas de cuti-réctions.

La question se pose de savoir s'il est nécessaire que le principe actif de la tuberculine soit plus ou moins

libéré du complexe auquel il est intégré pour que des réactions allergiques se produisent. Les recherches de Maurice Nicolle (149) et plus tard de Wolff-Eisner (150) ont conduit ces auteurs à admettre la nécessité d'une lyse des protéines tuberculiniques. Maurice Nicolle a exposé, comme suit, *sa théorie des actions lytiques* : d'après lui, il existerait dans les humeurs des sujets sensibilisés une lysine décomposant la protéine tuberculinique injectée, et mettant en liberté le principe actif déterminant les accidents inflammatoires locaux, et généraux fébriles.

Les accidents inflammatoires locaux, tels qu'on les observe dans les cuti et ophtalmo-réactions permettent d'en observer les effets : il suffit pour cela de faire agir *in vitro* en proportions convenables du sérum de phtisique sur de la tuberculine et d'instiller ensuite le mélange sur la conjonctive de sujets et d'animaux *sains*. Si le sérum contient la lysine, il doit libérer au contact de la tuberculine la substance qui détermine le phénomène de l'ophtalmo-réaction. J. Hekman (151) a publié à ce sujet les expériences suivantes :

« A une partie de tuberculine à 40%, on ajoute « 9 parties de sérum de phtisique, ce qui donne le titre « 4% de tuberculine. On laisse agir 5 minutes à la tem- « pérature de la chambre, puis on instille 3 à 4 gouttes

(149) M. Nicolle, *Ann. de l'Inst. Past.*, 1908, t. XXII, p. 132 à 237, cité par Calmette.

(150) Wolff-Eisner, *Frühdiagnose und Tub. Immunit. Wurzbourg*, 1909, cité par Calmette.

(151) J. Ekman, *Nederland'sch tijdschrift voor Geneeskunde*, 13 déc. 1913 et *Semaine médicale*, 8 avril 1914, p. 165. Cité par Calmette.

« dans le cul-de-sac conjonctival de l'un des yeux d'un « lapin ou d'un cobaye sain. On recommence au bout « de 2 à 3 minutes. Ces instillations amènent rapidement « la sécrétion d'un liquide trouble contenant quelques « leucocytes et du mucus. La réaction dure 5 à 10 mi- « nutes après la seconde instillation. L'injection des « vaisseaux est peu marquée chez le cobaye. Chez le « lapin elle l'est davantage. Comme l'œil non instillé ou « les animaux de contrôle ne réagissent pas à la tuber- « culine, ou au sérum de phtisique seul, il devient ma- « nifeste qu'une combinaison spéciale se produit entre « les deux corps. Il est probable que celle-ci s'effectue « surtout aux dépens de la tuberculine, qui subit des « modifications plus ou moins profondes, car, si le mé- « lange est abandonné trop longtemps à lui-même, il de- « vient inactif.

« Si l'on chauffe le sérum à 58°, la réaction est plus « faible, mais non abolie. Avec la tuberculine précipitée « par l'alcool, on obtient encore des réactions, mais elles « sont moins marquées.

« Chez les animaux qui ont fait l'objet de ces expé- « riences, l'autopsie a démontré l'absence de toute lé- « sion tuberculeuse (CALMETTE). »

Il est juste de dire que les expériences de J. EKMAN ont été partiellement infirmées par SALOMON et VALTIS (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. XCIV, p. 965). Il est très difficile en effet de provoquer des phénomènes réactionnels généraux ou locaux, avec des mélanges de tuberculine, et de sérums de tuberculeux. Il n'est pas aisé de provoquer des phénomènes réactionnels généraux chez les animaux sains en leur in-

jectant, soit dans le péritoine, soit sous la peau, soit même dans les veines des mélanges de tuberculine et de sérums de sujets tuberculeux. Cependant lorsque les proportions des composants du mélange sont telles qu'une quantité suffisante de tuberculine puisse subir l'hypothétique décomposition lytique, on observe des réactions thermiques manifestes qui ne se produisent pas avec le sérum normal. Mais elles sont toujours de courte durée, et il faut les suivre par des prises fréquentes de température. Ces injections ne provoquent d'ailleurs aucun autre trouble fonctionnel (CALMETTE).

Au lieu d'actions proprement lytiques, il conviendrait peut être mieux de parler de libération à partir d'une protéine bacillaire du principe actif tuberculinique qui trouverait alors dans les sérums des anticorps préformés avec lesquels il lui serait possible de réagir. Les protéines bacillaires seraient susceptibles de provoquer des réactions humorales (formation d'anticorps), les unes immédiates, les autres se produisant *peut-être parfois précocement avant que le protéines originelles ne se soient dissociées*, mais ne pouvant se *manifester* et produire leurs effets *qu'au fur et à mesure de la dissociation protéique libérant diverses fractions des complexes primitifs, susceptibles de réagir.* On sait qu'il faut un certain temps, ainsi que l'a montré DEBRÉ, pour que la sensibilisation allergique apparaisse chez l'animal (période antéallergique de DEBRÉ). Elle peut se manifester après une incubation plus ou moins longue qui varie de 3 jours à plusieurs semaines selon la virulence et le nombre des germes inoculés, les voies de l'infection, l'espèce animale, et même les individus. Parfois elle

apparaît soudanement dans toute son intensité. Le plus souvent elle est précédée d'une courte période de transition de 24 à 48 heures, au cours de laquelle les animaux éprouvés par des inoculations indermiques de 0 cc. 01 présente des réactions légères, ébauchées, fugaces. Il est évident que même dans le cas des réactions précoces produites par un infection massive, il n'y a au début qu'un petit nombre de bacilles qui sont détruits. Cependant la sensibilisation tuberculinique apparaît, elle ne se *manifesterait spontanément* que lorsque des fractions tuberculiniques seraient à même de réagir du fait de leur libération à partir des bacilles infectants. La destruction de beaucoup de bacilles n'est d'ailleurs peut être pas une condition nécessaire pour qu'apparaisse dans le sang le principe lytique ou que se produisent les modifications humorales mettant l'organisme à même de réagir avec le principe actif de la tuberculine. Il se peut que des protéines complexes sensibilisantes diffusent à partir des foyers tuberculeux. La plupart des sujets tuberculisés, mais cliniquement sains (ils ne sont porteurs en somme que d'un petit nombre de bacilles), ont, on le sait, une cuti-réaction positive. L'allergie tuberculeuse se manifeste surtout chez eux, lorsqu'on met au contact avec leurs humeurs des fractions du bacille tuberculeux telles que la tuberculine *ayant déjà subi une dégradation importante*, par conséquent aisément lysables et pouvant donc plus facilement réagir. Mais si on injectait des B. K. en quantité suffisante à ces sujets, ils feraient également des accidents tuberculiniques, leur organisme étant à même de libérer les fractions tuberculiniques de ces bacilles

nombreux n'ayant pas subi encore un « emmurement cellulaire » efficace, et ayant pénétré dans la circulation. Ces bacilles d'ailleurs laisseraient diffuser de la tuberculine en quantité notable.

On s'explique que des réactions générales et locales et des poussées évolutives surviennent à l'occasion de destructions plus ou moins abondantes de bacilles, libérant des produits de désintégration toxiques pour l'organisme sensibilisé. Les agents de ces destructions sont vraisemblablement des éléments cellulaires, tels les clasmatocytes, dont nous avons parlés plus haut. Les humeurs pourraient peut-être aussi réagir avec les bacilles et les cellules tuberculisées, et mettre en liberté un poison tuberculeux actif, mais il est plus probable de concevoir que, si les polynucléaires sont des agents de dispersion de bacilles, ce sont les cellules macrophages actives ou destructives qui, du fait de la macrophagie (englobement des bacilles et des polynucléaires), *sont les agents de libération des divers poisons, libération qui peut avoir de graves effets*, **lorsqu'il s'agit de lésions étendues et mal localisées, et de destructions bacillaires importantes.** Il est évident aussi, que les destructions cellulaires et en particulier **les dégénérescences polynucléaires** mettent en liberté des produits toxiques.

On comprend donc l'intérêt puissant qu'il y aurait à pouvoir agir sur les réactions cellulaires dans la tuberculose et à les modifier.

A. Borrel a montré l'affinité de la tuberculine pour le système nerveux (méthode de Lingolsheim-Borrel des inoculations intra-cérébrales de tuberculine chez le cobaye), et d'après lui ce seraient les filets nerveux avoi-

sinants les lésions tuberculeuses qui fixeraient et absorberaient pour une part les poisons du B. K. et seraient partiellement responsables des phénomènes généraux de l'intoxication tuberculeuse.

Définition de l'allergie tuberculeuse
(Conception personnelle.)

La réactivité de l'organisme aux bacilles englobe des phénomènes variés comprenant, nous l'avons vu, des réactions cellulaires, des formations d'anticorps ou, si l'on veut, des modifications physico-chimiques particulières. Ces réactions forment un ensemble se produisant vis-à-vis d'un *tout complexe*, les bacilles tuberculeux. Dissocions les constituants de ces bacilles ; nous obtiendrons par inoculation des fractions à l'animal des réactions *plus ou moins partielles*. Les fractions bacillaires successivement ou conjointement libérées dans l'organisme du fait de la désintégration des bacilles par les cellules ne donnent aussi que des réactions restreintes ou incomplètes. Mais l'organisme, du fait de conditions humorales antérieures, *surtout créées par les bacilles entiers*, peut être spécialement sensible aux fractions protéiques libérées du bacille, qui vont donc, à cause de cette sensibilisation antérieure, donner lieu à des manifestations réactionnelles spéciales. Ces fractions peuvent jouer le rôle d'haptènes et *différer dans une certaine mesure des protéines bacillaires complexes ayant créé l'état de sensibilisation*. Se fondant sur ces notions, on pourrait, selon nous, définir, comme suit, l'état d'allergie : *l'allergie, proche parente de l'anaphylaxie puisqu'elle ne peut être créée que par des pro-*

téines, s'en différencie par ce fait, que la substance déchaînante, qui est toujours d'origine proteique, peut cependant différer dans une certaine mesure, en ce qui concerne la taille moléculaire et les proportions des constituants moléculaires, de la substance sensibilisante, dont elle peut souvent n'être qu'une des fractions ; cette fraction ne serait pas en mesure de créer par elle-même l'état de sensibilisation.

La persistance de l'état allergique est due, au cours des tuberculoses, à ce que les bacilles demeurent longtemps vivants, peuvent même dans d'assez nombreux cas proliférer dans l'organisme, et suscitent donc une active formation d'anticorps ; d'autre part, du fait que simultanément de nombreux bacilles sont plus ou moins partiellent détruits, et libèrent par conséquent des fractions diverses déchaînantes, ou que les bacilles laissent diffuser en dehors d'eux des fractions ayant comme les précédentes une fonction haptène, et susceptibles par conséquent de réagir plus ou moins violemment avec les anticorps préformés, on s'explique l'apparition et la *persistance* d'accidents pathologiques, qui sont des manifestations allergiques.

Que la tuberculine soit toxique pour l'animal tuberculisé, et inoffensive pour l'animal sain, se comprend aisément et découle des notions précédentes ; elle ne peut nuire à un organisme, non déjà sensibilisé par les protéines bacillaires antigènes intégrales, c'est-à-dire qui ne possède pas dans ses humeurs les éléments (anticorps ?) susceptibles de réagir avec elle. Nous verrons plus loin à ce propos, à l'appui de cette conception, qu'il est possible dans certaines conditions, quoique ce soit difficile et qu'on obtienne des résultats inconstants, de

sensibiliser plus ou moins passagèrement à la tuberculine des cobayes sains par l'injection de sérums de tuberculeux (152) ou de produits provenant d'organes tuberculeux (153).

***

On conçoit aisément d'après l'exposé qui précède que, comme l'avaient remarqué Boquet et Nègre, (154) « dans l'hypersensibilité tuberculeuse, la spécificité étroite qui caractérise les réactions anaphylactiques fasse défaut » (Boquet et Nègre).

Cela est si vrai que tout récemment Paul Bordet a pu mettre en évidence des phénomènes d'allergie non spécifique chez le cobaye inoculé préalablement avec du B. C. G. L'injection intrapéritonéale de 2 cc. d'une suspension dense de colibacilles tués par le chauffage (à 60° ou même à 100°) inoffensive pour les animaux neufs tue rapidement les cobayes inoculés dans le péritoine, 15 ou trois semaines auparavant, de 5 milligrammes de B. C. G. De même, on peut provoquer l'apparition d'un phénomène analogue au phénomène de Koch par inoculation dans les délais voulus d'émulsion de B. Coli à des cobayes préalablement inoculés avec du B. C. G. (*C. R. Soc. Biol. Soc. belge de biologie*, séance du 28 mars 1931, t. CVI, n° 13, p. 1251).

(152) *a*) Lesné et Dreyfus, *C. R. Soc. Biol.*, 1909, t. LXVI, p. 415.

b) F. de Potter, *C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. XCIV, p. 1343.

(153) Brokman (H.) et Prokopowicz-Wierzbowska (M.), *C. R. Soc. Biol.*, Paris 1925, t. XCII, p. 1525-1527.

(154) Boquet (A.) et Negre (L.), *Sur l'hypersensibilité aux tuberculines et aux bacilles de Koch dans la tuberculose expérimentale* (*Ann. de l'Inst. Past.*, Paris, 1926, t. XL, p. 11-42).

Voici comment BOQUET et NÈGRE distinguent l'hypersensibilité tuberculeuse de l'anaphylaxie : on verra que notre conception de l'allergie fait clairement comprendre tous les faits qu'ils exposent :

« Ce qui caractérise l'anaphylaxie sérique du cobaye « par exemple, c'est, entre autres signes, *la durée de son « incubation*, la soudaineté et la brièveté du choc, la désen- « sibilisation après l'épreuve, sa spécificité et la pré- « sence, dans le sang des animaux préparés, d'anticorps « sensibilisants transmissibles d'animaux normaux (ana- « phylaxie passive).

« Rien de semblable dans l'hypersensibilité tubercu- « linique. L'incubation qui n'est jamais inférieure à « 7 jours dans l'anaphylaxie, s'abaisse ici jusqu'à « 3 jours chez les cobayes, qui ont reçu une dose infec- « tante massive. Pas de choc immédiat et brutal après « l'épreuve tuberculinique endo-veineuse, mais une « réaction durable, progressive, caractérisée essentielle- « ment par des troubles thermiques et congestifs pou- « vant amener la mort en quelques heures. *Absence de « désensibilisation* consécutive à l'épreuve même sévère, « mais une accoutumance transitoire qui s'exerce da- « vantage sur la sensibilité tégumentaire que sur la sen- « sibilité générale. *Spécificité relative.* Enfin au rebours « des protéines sensibilisantes, la tuberculine bien qu'elle « se comporte *in vitro* comme un antigène fixateur pré- « cipitable et floculable, ne manifeste *in vivo aucune « propriété antigène provocatrice* : elle ne produit pas d'an- « ticorps chez les animaux sains et ne les sensibilise pas. « Toutefois, *elle augmente les anticorps chez les tuber- « culeux* et crée dans leur derme ou leurs muqueuses

« des zones hypersensibles, où l'injection ultérieure « d'une nouvelle dose, éveille une réaction inflamma- « toire identique à la réaction initiale (reviviscence des « cuti et ophtalmo-réaction). »

J. VERGE (155) a cherché à établir l'influence des injections de tuberculine à des animaux tuberculeux sur le taux des anticorps décelés par la réaction de déviation du complément. (Notons que cette méthode ne permet pas, semble-t-il, ainsi que l'a montré H. MUELLER (voir p. 78) de titrer l'activité tuberculinique proprement dite.) Il a montré que l'injection de tuberculine diluée au 10e, si elle ne provoque pas la formation d'anticorps dans l'organisme du chien sain, *élève le taux des anticorps spécifiques* lorsqu'elle est inoculée à un organisme tuberculeux. Les anticorps atteignent la proportion maxima 10 à 15 jours après la tuberculination, puis décroissent lentement.

« Dans le même temps qu'ils acquièrent la sensibilité « tuberculinique, les animaux tuberculeux, le cobaye « surtout, se montrent susceptibles de réagir par un « choc rapidement mortel aux injections intravei- « neuses de protéine bacillaire. *L'infection tuberculeuse « engendre donc un véritable état d'anaphylaxie, comparable « dans une certaine mesure à l'anaphylaxie sérique.* « Cette hypersensibilité anaphylactique apparaît chez « les cobayes normaux lorsqu'on leur injecte par la voie « péritonéale ou veineuse des extraits glycérinés ou « aqueux contenant en dissolution des protéines du

(155) VERGE (J.), *Réaction de fixation et injection de tuberculine chez le chien* (*C. R. Soc. Biol., Paris*, 1923, t. LXXXVIII, p. 562).

« B. K. Elle survient après une incubation de 6 à « 20 jours après une seule injection de 0 mgr. 8 de ces « substances pesées à l'état sec et persiste plusieurs « mois. La dose toxique minimum est de 0 mgr. 99 « la dose mortelle est de 1 mgr. 6, *mais les animaux « ainsi préparés ne réagissent qu'exceptionnellement à « la tuberculine* (BOQUET et NÈGRE). »

***

Le fait que la spécificité des réactions allergiques n'est que relative tient à ce que des complexes protéiques variés peuvent provoquer la formation d'anticorps donnant des « réactions de groupes » ; cela veut dire que ces anticorps réagissent avec des protéines variées, mais ayant dans leur molécule un même noyau aromatique (voir p. 94) ou avec des fractions de ces protéines comportant les mêmes groupes aromatiques ou des groupes étroitement apparentés.

On a distingué les réactions anaphylactiques des réactions allergiques par ce fait particulier que les réactions anaphylactiques ont un développement immédiat et brutal, mais la brutalité du déclanchement des réactions anaphylactiques dépend pour une part de la voie d'introduction employée, et ne se produit que dans des conditions bien déterminées. Un phénomène comme le phénomène d'Arthus chez le lapin, que l'on peut faire rentrer dans le cadre des réactions anaphylactiques n'a rien de rapide dans son apparition. La brutalité de l'apparition des réactions dépend évidemment de la composition chimique et de l'état

physique de la substance déchaînante et de sa diffusibilité.

On voit d'après tout ce qui précède combien voisines des réactions anaphylactiques, *quoique s'en distinguant nettement*, sont les réactions allergiques dans la tuberculose.

***

Dans le cours de la bacillose les phénomènes anaphylactiques et allergiques *sont étroitement intriqués.*

En effet, les réactions qui traduisent l'hypersensibilité tuberculeuse présentent des aspects multiples : tantôt les animaux infectés répondent à l'épreuve péritonéale endo-veineuse ou subdurale par un choc immédiat anaphylactique (choc protéique), tantôt par des troubles généraux progressifs qui vont entraîner la mort en quelques heures (intoxication tuberculinique). Localement après les épreuves intradermiques, on note une papule précoce transitoire (réaction de Zinsser) ; après injection de bacilles dans des conditions adéquates, on observe une réaction nécrotique ou suppurative (réaction anaphylactique aux corps microbiens et aux protéines bacillaires : phénomène de Koch, phénomène de Borrel-Calmette) et une réaction œdémateuse inflammatoire exsudative parfois suivie d'une eschare superficielle (cuti, intradermo, réaction tuberculinique) (Boquet et Nègre) (156).

Du point de vue des réactions locales, H. Zinsser

(156) *Ann. de l'Inst. Past.*, Paris, 1926, t. XL, p. 11 à 42.

distingue de même deux formes d'hypersensibilité chez les cobayes tuberculeux (157).

1° *Une forme anaphylactique vraie*, traduite lors de l'inoculation intradermique de protéines bacillaires par une papule précoce qui se dessine 2 à 15 minutes après l'injection, persiste 1 à 2 heures et disparaît. Cette réaction qui se développe aussi chez des animaux sensibilisés avec des protéines (sérum de cheval, etc.), peut être considérée comme une des manifestations de l'hypersensibilité générale vis à vis des protéines.

2° *Une hypersensibilité spéciale à la tuberculine* (analogue aux hypersensibilités observées au cours des infections correspondantes à la typhoïdine, la malléine, l'abortine, etc.), qui ne se produit pas chez les cobayes sensibilisés avec des protéines telles que le sérum de cheval et dont les manifestations réactionnelles sont les suivantes : 4 à 5 heures après l'inoculation, un épaississement parfois hémorragique se produit dans la région injectée. Cette réaction n'atteint son complet développement que vers la 48e heure et s'accompagne de signes inflammatoires très marqués.

On sait que l'hypersensibilité tuberculinique est variable au cours de la maladie tuberculose et peut subir sous des influences diverses des fluctuations. Ce serait sortir du cadre de notre étude que de nous étendre sur ces notions aujourd'hui bien connues (158).

(157) H. Zinsser, *Studies on the tuberculin reaction and on specific hypersensitiveness in bacterial infection* (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXIV, p. 495, année 1921).

(158) Lire article de Boquet et Nègre, *Ann. Inst. Past.*, 1926, t. XL, p. 11 à 42.

La sensibilité tuberculinique s'apparentant ainsi que nous venons de le démontrer à l'anaphylaxie et s'en distinguant cependant par d'importantes particularités, il était logique de chercher à faire naître cette sensibilité par des moyens non spécifiques.

Mathes (159) aurait indiqué la possibilité d'obtenir la réaction tuberculinique avec la deutéroalbumose, et certaines recherches auraient tendu à démontrer que la sensibilité tuberculinique peut résulter de l'administration de substances non spécifiques.

Keller (160) a cherché à vérifier les expériences faites à ce sujet. Si on injecte à un cobaye un extrait d'organe de cobaye *sain*, puis qu'on l'éprouve par voie intra-cutanée avec la tuberculine, on obtient après la deuxième ou troisième épreuve une réaction rappelant celle de la tuberculine. Cependant cette réaction disparaît en 48 heures environ, et en répétant les injections tuberculiniques, c'est une désensibilisation de l'animal que l'on observe alors.

Aussi Keller pense-t-il qu'il ne s'agit nullement en l'espèce de l'hypersensibilité aux constituants du B. K., mais bien à des albumines non spécifiques. Deux autres faits plaident en faveur de cette opinion : les cobayes préparés à l'aide d'extraits d'organes ne présentent pas la réaction comme font les cobayes tuberculeux quand on les éprouve avec des extraits

(159) Mathes, cité par Gideon Wells, *Les aspects chimiques de l'immunité.* Traduction Bœz, p. 111.

(160) Keller (F.), *Versuche einer sensibilisierung von meërschweinchen gegen alttuberkulin auf unspezifischen wege* (*essai de sensibilisation du cobaye à la tuberculine ancienne par des moyens non spécifiques*) (*Zeitschr. f. Hyg.* t. CVIII 1927-1928, p. 784).

aqueux de bacilles ne contenant pas de substances du milieu de culture. D'autre part, le bouillon glycériné donne les mêmes réactions que la tuberculine.

Il s'agit donc là de manifestations d'ordre proprement anaphylactique. L'apparition de la véritable sensibilité tuberculinique est donc liée à la présence de protéines du bacille tuberculeux mais surtout de bacilles entiers morts ou *surtout vivants* dans l'organisme.

***

Nous avons plus haut exposé la théorie des actions lytiques de M. Nicolle. En ce qui concerne la sensibilité à la tuberculine on peut se demander où se produisent les agents lytiques, si agents il y a, ou d'autres anticorps tuberculiniques.

Il est à noter tout d'abord que tous les tissus de l'organisme ne participent pas à une hypersensibilité tuberculinique ainsi que l'a montré P. Rondoni (161) : lorsque le cœur indemne de lésions spécifiques d'un cobaye tuberculeux est soumis à la circulation artificielle dans un liquide contenant de la tuberculine, il se comporte comme le cœur d'un cobaye normal.

L'hypersensibilité d'un organisme tuberculeux à la tuberculine paraît donc être liée seulement à la réaction de quelques-uns de ses tissus.

Dans le cas de la sensibilité cutanée, on peut se demander si la peau acquiert sa sensibilité « active »

(161) P. Rondoni, *L'action de la tuberculine sur le cœur isolé du cobaye. Contribution à l'étude du mécanisme de la tuberculose* (*Boll. d'istituto seroter. Milanese*, août 1922).

sous l'influence des agents qui proviennent du foyer tuberculeux, ou si elle joue uniquement le rôle d'un organe sensibilisé, mais passif. Dans cette dernière hypothèse certains produits provenant du foyer tuberculeux et possédant la propriété d'agir sur la tuberculine, ou de réagir avec les principes actifs tuberculiniques, passerait dans la circulation générale sanguine et serait absorbée ensuite par les cellules de téguments. Ces cellules acquièreraient ainsi la propriété de réagir à la tuberculine.

Récemment Huc, Fitte et de Williencourt (162) reprenant les expériences de de Marval et Fitte de Buenos-Ayres ont constaté qu'au niveau d'un foyer tuberculeux superficiel ou à son voisinage la cuti-réaction déterminait des réactions beaucoup plus nettes et plus marquées qu'à distance du foyer ; qu'autrement dit, dans ces cas, la cuti-réaction locale avait un caractère hyperpositif alors que la cuti distante, elle, était simplement positive. Les cuti-réactions locales ou « cuti-réactions différentielles » comme les auteurs les ont appelées, peuvent rendre des services pour le diagnostic d'une infection superficielle localisée, dont la nature tuberculeuse est douteuse et pour le pronostic de lésions tuberculeuses chirurgicales ou autres, considérées comme guéries. Mais la méthode des cuti-réactions différentielles comporte un assez grand nombre d'insuccès et nécessite une technique d'exécution rigoureuse.

(162) G. Huc, Fitte, et de Williencourt, *Les cuti-réactions locales à la tuberculine. Leur valeur diagnostique et pronostique* (*Bull Soc. Pédiatrie*, nº 7, juillet 1929, p. 409).

BROKMAN (H.) et M. PROKOPOWICZ-WIERZBOWSKA (163) ont institué une série d'expériences qui ont eu pour but de rechercher si des substances sensibilisantes capables de passer dans la circulation existent réellement dans le foyer tuberculeux. Ils se sont servi dans leurs recherches d'extraits aqueux préparés à partir des organes tuberculeux humains principalement de ganglions lymphatiques prélevés à l'autopsie. Ces extraits aqueux étaient stérilisés par filtration sur bougies de porcelaine (filtre Chamberland). Les auteurs ont essayé de sensibiliser des cobayes en leur inoculant des extraits ainsi préparés, par voie centrale ou localement. Ils auraient obtenu des réactions tuberculiniques au bout de 24 à 48 heures avec parfois nécrose locale des tissus et leurs expériences auraient tendu à prouver que des substances provenant du foyer tuberculeux jouent un certain rôle dans l'apparition de la sensibilisation à la tuberculine de la peau d'un sujet tuberculeux.

Mais on peut objecter à leurs expériences qu'il s'agissait peut-être de réactions d'ordre anaphylactiques à des protéines non spécifiques ; par ailleurs ils ont inoculé à l'animal des extraits protéiques *contenant vraisemblablement des protéines bacillaires et des produits de désintégration des bacilles.*

(163) BROKMAN (H.) et M. PROKOPOWICZ-WIERZBOWSKA, *Recherches sur les conditions d'apparition de la cuti-réaction à la tuberculine* (*C. R. Soc. Biol.*, 1925 t. XCII, p. 1525-1527).

***

Conclusions. — Ainsi donc pour nous résumer, nous avons observé dans la tuberculose des réactions anaphylactiques et des réactions dites allergiques. Ces réactions allergiques, *lorsqu'elles se produisent spontanément* et non à la suite d'injection sous-cutanée de tuberculine ou d'intradermo ou de cuti-réaction à la tuberculine semblent être sous la dépendance de la libération brutale ou progressive dans l'organisme déjà sensibilisé, à partir de foyers tuberculeux, de fractions bacillaires protéiques contenant le principe actif de la tuberculine et *jouant le rôle d'haptènes.*

Nous devons ajouter de plus que l'hypersensibilité tuberculinique va en général de pair avec un certain degré de résistance aux surinfections.

Toutefois, l'hypersensibilité tuberculinique et la résistance aux surinfections *sont deux états distincts.* L'une se traduit par des manifestations locales de courte durée, inflammatoires ou nécrotiques, par des réactions focales et une réaction générale qui peut aboutir à la mort en quelques heures.

L'autre, est marqué par l'augmentation progressive du pouvoir de défense contre les surinfections, et *de localisation* des nouveaux processus bacillaires ; cette résistance croissante aux surinfections est peut-être liée à des modifications dans les réactions cellulaires dans la fixation des poisons microbiens et dans le pouvoir de désagrégation des bacilles par les macrophages.

***

Nous voici arrivés au terme de cette longue étude. Avant de terminer et de tirer la leçon de tous les faits observés, il est encore une question que nous devons rapidement traiter : il nous faut encore envisager en un chapitre d'ensemble l'influence que peuvent avoir sur l'évolution de la tuberculose les diverses fractions qui ont été extraites du bacille de Koch par les différents auteurs, lorsqu'elles sont inoculées dans un organisme tuberculeux.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DE L'INOCULATION DE DIVERSES FRACTIONS EXTRAITES DU BACILLE DE KOCH SUR L'ÉVOLUTION DES TUBERCULOSES

A) Fractions lipoïdiques

Nous avons dit que les chloroformo- et éthérobacillines d'Auclair n'exerçaient aucune action notable sur l'évolution des tuberculoses expérimentales.

La phosphatide A_3 isolée à partir du B. K. humain par R. J. Anderson inoculée au lapin par voie intrapéritonéale a semblé d'après les expériences de C. A. Doan et F. R. Sabin diminuer sa résistance aux bacilles humains (et en même temps il y avait élévation du rapport monocyte-lymphocyte) et augmenter sa résistance aux bacilles bovins.

Mais ces résultats ne sont pas nettement concluants et d'autres expériences sont encore nécessaires. Il faut noter d'ailleurs que l'injection intrapéritonéale de la phosphatide a pour effet une production intense de tissu tuberculaire dans le péritoine de l'animal et que la voie intrapéritonéale semble par conséquent assez traumatisante.

Les acides gras saturés de R. J. Anderson ont également semblé diminuer la résistance de l'animal aux infections bacillaires ultérieures.

Boquet et Nègre (164) ont montré que les extraits acétoniques des graisses bacillaires (voir tableau 10, p. 47 indiquant les substances susceptibles vraisemblablement d'être extraites par l'acétone) ont une influence nuisible sur l'évolution de la tuberculose expérimentale du lapin dont ils hâtent l'évolution.

Récemment Nègre et Valtis (165) ont montré que les injections sous-cutanées d'extraits acétoniques de bacilles de Koch favorisent le développement des lésions tuberculeuses chez des cobayes préalablement inoculés avec des éléments filtrables du bacille tuberculeux. Après 6 à 7 injections d'extraits acétoniques on observe, d'après les auteurs, l'apparition après l'inoculation du filtrat chez la plupart des cobayes de ganglions caséeux contenant des bacilles de Koch. Si les injections d'extraits acétoniques ne sont pas poursuivies, ces lésions ne se généralisent pas. Réinoculées à des cobayes sains, elles déterminent chez ces derniers l'apparition de lésions ganglionnaires locales.

Si les injections d'extraits acétoniques sont répétées 12 à 14 fois, on peut observer chez les cobayes préalablement inoculés, avec les éléments filtrables du bacille de Koch, le développement de lésions tuberculeuses

(164) Boquet et Nègre, *Antigénothérapie de la tuberculose par les extraits méthyliques de bacilles de Koch.* Masson et Cie éditeurs, 1927, p. 58.

(165) Nègre (L.) et Valtis (J.), *Action des extraits acétoniques de bacille de Koch sur les propriétés pathogènes des éléments filtrables du virus tuberculeux* (*C. R. Soc. Biol.*, t. CV, 1930, nº 28, p. 183).

des ganglions et des organes, qui réinoculées à des cobayes sains leur donne une tuberculose généralisée (Nègre et Valtis). Par ailleurs, les mêmes auteurs ont montré récemment que les injections sous-cutanées d'extrait acétonique de B. K. favorisent la multiplication *in vivo* chez le cobaye des bacilles paratuberculeux et des bacilles tuberculeux ovïaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. CVII, N° 19, 12 juin 1931, p. 596).

Contrairement à l'effet nuisible des extraits acétoniques de B. K., « l'antigène méthylique » de Boquet et Nègre, ainsi que cela a été mis en évidence par les beaux travaux de ces auteurs, produit assez souvent des effets relativement favorables sur l'évolution de certaines tuberculoses tant expérimentales que cliniques. On sait que l'antigène méthylique contient, ainsi que nous l'avons vu, des constituants lipoïdiques et aussi vraisemblablement des fractions protéiques.

Ce serait sortir du cadre de cet ouvrage de nous étendre longuement sur les effets thérapeutiques de l'antigène méthylique excellemment et longuement décrits par les auteurs dans leur publication. Nous avons observé dans un certain nombre de cas la plus grande réactivité cellulaire des cobayes tuberculeux à l'antigène méthylique, et la réaction précoce de cellules mononucléaires aux injections de ce produit. L'antigène méthylique a eu de bons effets sur les tuberculoses osseuses et cutanées (lupus).

En dehors des fractions lipoïdiques spécifiques, il est possible que les injections de lécithine exercent une action relativement favorable sur l'évolution de cer-

taines formes de tuberculoses (Cf. expériences de CLAUDE, p. 163 et s.).

B) FRACTIONS PROTÉIQUES

La bacillo-caséïne d'AUCLAIR et les différentes protéines *complexes* extraites des bacilles par les différents auteurs, ont, nous l'avons vu, des effets toxiques et n'exercent par conséquent aucune influence favorable sur l'évolution des tuberculoses.

En ce qui concerne la tuberculino-thérapie nous ne pouvons passer ici en revue toutes les méthodes qui depuis R. KOCH ont été recommandées par les différents auteurs (voir CALMETTE : *L'infection bacillaire et la tuberculose*, p. 703). On a traité avec un succès relatif certaines tuberculoses cutanées par des injections de tuberculine à très faibles doses (tuberculine C. L.) ce qui aurait pour effet de créer un état d'accoutumance progressif à la tuberculine et de désensibiliser les malades. Par ailleurs CEVEY, s'est élevé dans un ouvrage récent contre l'abandon, injuste selon lui, de la Tuberculinothérapie (*Pour guérir les tuberculeux*, J. B. Baillière, éditeurs, 1930).

Nous avons dit ailleurs, ce que nous pensons de l'allerginothérapie préconisée par M. JOUSSET (Voir *Presse Médicale*, N° 40, 20 mai 1931 : Allergine et Tuberculine).

H. MUCH avec DEYCKE a voulu introduire dans la thérapeutique de la tuberculose ses antigènes partiels ou partigènes. En faisant agir sur les corps des bacilles

tuberculeux un acide faible tel que l'acide lactique, il opérait un fractionnement bacillaire et il obtenait deux fractions distinctes, une soluble dans l'eau qui était la tuberculine vraie, et qu'il éliminait comme toxique et nuisible, et une autre insoluble qu'il appelait tuberculine résiduelle. Cette dernière pouvait se décomposer en 3 sous-produits, protéine, lipoïde et graisse. Chacune de ces substances dites antigènes partiels ou partigènes donnait des réactions locales et générales propres et était douée de fonctions biologiques spéciales dont la plus importante était d'engendrer des anticorps spécifiques correspondants. Pour Much l'immunité réelle complète ne pouvait être obtenue que par la mise en œuvre de tous les antigènes partiels. Certains auteurs semblent avoir obtenu des résultats favorables avec les antigènes partiels de Much dans le traitement de la tuberculose, mais il ne semble pas que les effets thérapeutiques de ces partigènes soient supérieurs à ceux obtenus avec la tuberculine.

***

En résumé, l'antigénothérapie de la tuberculose qui n'a donné des résultats favorables qu'entre les mains de quelques auteurs semble être cependant *une méthode thérapeutique d'avenir*, et son avenir dépend pour une part importante des modes de préparation des antigènes bacillaires adoptés pour la thérapeutique. Il n'y a pas de doute qu'elle ne puisse, si les fractions bacillaires sont judicieusement choisies et extraites selon une technique précise et sûre aider l'organisme tuber-

culeux à se défendre tant contre les accidents de l'intoxication proprement dite par les produits tuberculeux, que contre les accidents imputables à des réactions allergiques, occasionnées par des fractions bacillaires diffusant dans l'organisme à partir des foyers tuberculeux.

***

Il nous faut, maintenant que nous sommes parvenus à la fin de cet ouvrage englobant une foule de notions complexes, faire un résumé synthétique de tous les faits observés, et tirer ensuite des conclusions d'ensemble.

QUATRIÈME PARTIE

SOMMAIRE RÉCAPITULATIF. — CONCEPTION GÉNÉRALE DES PROCESSUS PATHOGÉNIQUES DE LA TUBERCULOSE ET DÉDUCTIONS THÉRAPEUTIQUES. — CONCLUSIONS.

QUATRIÈME PARTIE

SOMMAIRE RÉCAPITULATIF. — CONCEPTION GÉNÉRALE DES PROCESSUS PATHOGÉNIQUES DE LA TUBERCULOSE ET DÉDUCTIONS THÉRAPEUTIQUES. — CONCLUSIONS.

CHAPITRE PREMIER

SOMMAIRE RÉCAPITULATIF

Ce travail a été divisé en trois parties principales : dans la première partie, nous avons étudié les différentes fractions que par des techniques chimiques diverses on est à même de retirer du bacille tuberculeux.

Nous avons décrit les différentes techniques, qui vont se perfectionnant depuis les travaux initiaux des auteurs allemands et français, et en particulier d'Auclair

et Paris, jusqu'aux techniques actuelles de Goris et surtout des auteurs américains modernes tels que R. J. Anderson.

***

Composition chimique du bacille de Koch. — Nous avons distingué des fractions lipoïdes et lipoïdo-cireuses, et des fractions protéiques.

Des fractions lipoïdes, on a extrait des phosphatides et des graisses complexes dont on a isolé des acides gras et un résidu insaponifiable ; parmi ces acides gras il en est un, l'*acide phtioïque* qui a été découvert par R. J. Anderson et qui est optiquement et biologiquement actif. Le résidu insaponifiable, appelé mykol par Goris, diffère de composition et de propriétés selon les auteurs, dont les uns ont travaillé sur des bacilles morts ayant poussé sur bouillon glycériné (Goris), les autres sur des cultures ayant poussé sur milieu synthétique (R. J. Anderson). Ce dernier auteur a été à même d'isoler des lipoïdes bacillaires du bacille humain une phosphatide particulièrement active qu'il a dénommée phosphatide A_3. *L'acido-résistance du bacille de* Koch *semble être une des propriétés du résidu insaponifiable et de ses éthers complexes.*

En ce qui concerne les fractions protéiques, après avoir rappelé les travaux antérieurs d'Auclair et Paris, de Dominici et Ostrowski, etc., nous avons montré qu'il n'était pas possible de distinguer nettement les produits exomicrobiens, diffusant dans le milieu de culture, de la fraction protéique du bacille elle-même. Nous avons démontré cependant avec R. F. Le Guyon

qu'il existait une substance douée de propriétés tuberculiniques, et indéniablement exomicrobienne, puisqu'elle existait encore dans le milieu de culture après simple ultra-filtration.

Dans la fraction protéique du bacille, on a été à même de distinguer au moins deux fractions (T. B. Johnson, E. B. Brown, R. D. Coghill).

L'une soluble dans l'eau douée des propriétés de la tuberculine.

L'autre, alcali-soluble, non douée de propriétés tuberculiniques.

De la tuberculine brute et du milieu de culture synthétique de Petroff sur lequel avaient poussé des bacilles, H. Mueller a isolé deux fractions :

L'une, qui s'apparente vraisemblablement à la protéine hydro-soluble et qui est douée de propriétés tuberculiniques ;

L'autre, ou résidu antigène de la vieille tuberculine, qui donne des réactions de précipitation *en présence* d'un sérum précipitant, mais qui ne donne pas de réactions cutanées.

Ce « résidu antigène » semble être de nature hydrocarbonée complexe.

Les réactions cutanées et les réactions de précipitation provoquées par la tuberculine ne sont donc pas l'apanage d'une seule substance, et il est donc impossible de titrer l'activité d'une tuberculine pour les cuti-réactions chez le sujet sensible en l'éprouvant par des réactions de précipitation.

Le principe actif des substances protéiques responsable des propriétés tuberculiniques (possibilité de

donner des cuti-réactions positives chez un sujet sensibilisé, etc.) semble être un acide nucléique particulier, *l'acide tuberculinique* de T. B. Johnson.

Les protéines hydro-solubles du bacille contiennent vraisemblablement cet acide nucléique particulier.

En dehors de ces fractions protéiques, R. J. Anderson a encore isolé des corps microbiens une fraction polysaccharique et Laidlaw et Dudley ont isolé à partir de la tuberculine brute une substance hydrocarbonée donnant les réactions des pentoses et qui se rapproche par conséquent du résidu antigène de la vieille tuberculine de Mueller. Ni l'une ni l'autre de ces substances ne sont douées de propriétés tuberculiniques.

***

Ayant nettement montré les diverses substances que l'on peut extraire chimiquement du bacille de Koch, *ou que peut éventuellement donner ou libérer ce bacille au cours de sa dégradation métabolique dans l'organisme tuberculeux*, nous avons conclu qu'il est inexact de concevoir le bacille de Koch comme entouré d'une enveloppe ciro-lipoïdique circonscrivant un contenu protéique ; bien au contraire les lipoïdes du bacille de Koch sont intimement mélangés et même amalgamés et combinés aux divers complexes protéiques du bacille de Koch dans toute la masse du bacille, et par conséquent les actions biologiques propres aux diverses fractions doivent s'exercer en étroite corrélation les unes avec les autres.

Les conceptions modernes des substances antigènes. — Tous ces faits étant exposés, nous avons voulu aborder l'étude des actions biologiques particulières propres à chacune des fractions isolées à partir du bacille. Mais nous avons estimé qu'il ne nous était pas possible d'entreprendre cette étude avant d'avoir nettement exposé les conceptions actuelles concernant les substances antigènes et donné un aperçu général des réactions cellulaires observées dans la tuberculose. C'est ce qui a fait l'objet de la deuxième partie de cet ouvrage. Il serait en effet absolument impossible, à défaut de ces notions, de comprendre nettement les diverses réactions tant humorales que cellulaires produites par les diverses fractions du bacille de KOCH et par les bacilles eux-mêmes. L'étude générale de l'antigénie et des réactions cellulaires dans la tuberculose constitue en effet le fil directeur unissant les uns aux autres tous les faits observés et leur donnant toute leur portée.

***

On peut distinguer les antigènes en antigènes récepteurs capables uniquement de réagir *in vitro* et *in vivo* avec les anticorps déjà antérieurement formés, et les antigènes provocateurs capables non seulement de réagir avec les anticorps préformés, mais encore de provoquer la formation d'anticorps dans l'organisme animal où ils ont été injectés.

Les haptènes de LANDSTEINER sont des antigènes récepteurs. Ce peuvent être des lipoïdes, bien que la question de l'antigénie propre aux lipoïdes ne soit pas

résolue, et que toutes les fractions lipoïdiques soient susceptibles de contenir des éléments protéiques qui seraient les véritables agents actifs, les lipoïdes n'exerçant qu'une action activante et *conférant peut être aux protéines auxquelles ils sont unis une spécificité particulière.*

Ce peuvent être aussi des fractions polysaccharides susceptibles également de conférer aux protéines auxquelles ils sont unis une spécificité particulière. Ce sont surtout des fractions provenant du clivage chimique des protéines antigènes. La spécificité antigénique semble être sous la dépendance de variations structurales de noyaux amino-acides aromatiques des protéines, et de la position relative de l'acide et du groupe diazo dans le noyau aromatique : *elle dépend en somme d'une partie relativement petite de la molécule protéique.*

De très nombreux corps microbiens, bacilles tuberculeux, pneumocoques, staphylocoques et méningocoques, etc., il est possible d'extraire, ainsi que l'ont montré Zinsser, et Avery et Heidelberger, *des antigènes résiduels* dont quelques-uns ne sont doués que de fonctions haptènes : de tels antigènes résiduels à fonction haptène peuvent aussi être extraits de milieux de culture dans lesquels ont poussé des bactéries : *il semble que ce que l'on appelle la tuberculine soit un haptène : elle se comporte en effet biologiquement comme telle.*

Les haptènes ayant en général une molécule plus petite que la protéine dont ils dérivent, *il semble que la formation d'anticorps* in vivo *soit sous la dépendance de la taille moléculaire de l'antigène.*

***

Les réactions cellulaires dans la tuberculose. — Ces notions étant acquises, nous avons abordé l'étude des réactions cellulaires dans la tuberculose et des facteurs cellulaires de dispersion et de localisation de l'infection tuberculeuse. Après avoir distingué avec NOEL FIESSINGER la bactériopexie circulante et la bactériopexie fixée, nous avons montré que du fait d'un processus très général, la seconde succédait en général toujours à la première, et que la dispersion et la localisation d'un processus infectieux dépendait de la précocité, de la durée, de l'importance relative de l'une et l'autre de ces réactions. Nous avons montré que c'était surtout les polynucléaires *qui étaient responsables de la propagation et de la dispersion des bacilles dans l'organisme*, et que la pexie polynucléaire n'était pas à la vérité un processus de défense contre l'infection tuberculeuse ; qu'au contraire les histiocytes et monocytes macrophages jouaient un rôle beaucoup plus efficace, quoique imparfait, pour la limitation du processus tuberculeux, et la localisation du bacille de KOCH. Parmi ces macrophages il est certains éléments, tels les clasmatocytes de RANVIER qui sont vraisemblablement capables de désintégrer et digérer plus ou moins complètement les bacilles tuberculeux, lorsqu'ils ne sont pas trop virulents.

Ayant rappelé les expériences classiques de BORREL sur l'histogénèse du follicule tuberculeux et les recherches histopathologiques de BEZANÇON et de ses collabo-

rateurs, nous avons rendu compte de nos expériences personnelles en collaboration avec R. F. Le Guyon touchant les premiers stades de la bactériopexie des bacilles de Koch dans les primo-infections et les réinfections tuberculeuses expérimentales chez le cobaye. Ayant retrouvé les stades initiaux de polynucléose, suivis d'une histiocytose marquée et d'englobement des polynucléaires et des bacilles par les macrophages, nous avons montré que chez les animaux réinfectés dans un délai relativement précoce après l'infection initiale avec des souches de virulence moyenne, *la réaction polynucléaire était plus intense que chez les cobayes de primo-infection, mais que par la suite la macrophagie se montrait plus active et plus précoce* ; ce dernier fait semblerait expliquer le mécanisme d'apparition du phénomène de Koch chez les cobayes tuberculeux et la limitation du processus.

Il semble donc établi que les macrophages sont des facteurs de localisation des processus tuberculeux et et les polynucléaires des facteurs de dispersion ; il convient d'ajouter que ces polynucléaires jouent un rôle important comme facteurs de dissociation des formations cellulaires tuberculeuses : il y a en effet un afflux polynucléaire local *au moment de la caséification des tubercules.*

Par ailleurs, l'élévation du taux des monocytes du sang par rapport à celui des lymphocytes semble proportionnel à l'étendue des lésions tuberculeuses. Aussi la constatation d'une élévation du rapport monocyte-lymphocyte dans le sang ou ce qui revient au même, d'un abaissement du rapport lymphocyte-monocyte

(DE SANCTIS MONALDI) semble de même que la polynucléose être d'un mauvais pronostic au cours des tuberculoses.

Il ressort de tous les faits que nous avons étudiés qu'il existe deux types de réactions histopatologiques à l'infection tuberculeuse.

D'une part *un type de réaction spécifique* aboutissant à la formation de follicules.

Dautre part *un type de réaction non spécifique*, comportant : Afflux polynucléaire plus ou moins marqué et de durée variable. — Néoformation de cellules indifférentiées : fibroblastes, histiocytes..., prolifération vasculaire plus ou moins active, avec division active de l'endothélium et de l'advendice. Cette réaction ne comporte pas de formations folliculaires. (Cas de tuberculose dite non folliculaire. Par ex. lésions de broncho-alvéolite banale d'origine bacillaire.) *Il semble que dans la plupart des cas de tuberculose, on observe concomitamment les deux types de réaction.* C'est là une notion importante et qu'il ne faut jamais perdre de vue. L'anatomie pathologique de la tuberculose est le plus souvent constituée par une succession et une intrication de lésions spécifiques et de lésions non spécifiques. Les réactions cellulaires non spécifiques de l'infection bacillaire sont des facteurs beaucoup moins efficaces de localisation des bacilles que les réactions spécifiques.

Par ailleurs toute réaction cellulaire à l'infection tuberculeuse s'accompagne d'une réaction exsudative plus ou moins marquée selon les cas et les localisations, de même d'ailleurs que le processus inflammatoire le plus banal.

Il ne semble donc pas que l'on puisse tirer de l'étude de la réaction exsudative mise en évidence sur des coupes par des procédés spéciaux de coloration et des diverses modalités de son aspect des indications touchant l'état de sensibilisation allergique du sujet tuberculisé, comme le voudraient E. Rist et ses collaborateurs. On ne peut dire en effet qu'une transformation collagène d'un exsudat fibrineux, ou même qu'un processus de sclérose constituent des réactions indiquant plus ou moins spécifiquement un état de sensibilisation allergique. La composition chimique du bacille infectant et la nature des poisons libérés du bacille, le nombre et la virulence des bacilles peuvent influer grandement sur la réaction histologique et exsudative, ainsi que nous le verrons plus loin.

***

Tous les faits que nous venons d'exposer rendent patent l'intérêt pronostique de l'étude des réactions *cellulaires* générales et locales dans les tuberculoses ; et ils entraînent la conclusion suivante : *à savoir qu'il y a avantage le plus souvent à entraver ou à empêcher autant qu'il est possible les réactions polynucléaires survenant au cours des tuberculoses ;* nous avons tenté de modifier les différents stades de la bactériopexie du bacille de Koch chez l'animal soit par la très intéressante méthode de dérivation de Charles Madelaine, soit par l'injection locale de différentes substances chimiques (acide lactique, opium), soit par des inoculations concomitantes d'autres microbes. Nous avons

par des expériences personnelles montré avec R. F. Le Guyon l'influence de la dérivation leucocytaire sur les premiers stades de la bactériopexie du BK chez le lapin.

En matière de tuberculose, il est souvent utile de limiter les processus de réaction cellulaire *et d'instituer une thérapeutique antiphlegmasique*, la phagocytose pouvant parfois se montrer non seulement inutile mais encore nuisible.

Nous rendons compte des expériences que nous avons pratiquées ou qui ont été pratiquées avant nous et de leurs résultats. La conclusion à tirer de ces recherches est qu'il y a grand intérêt à étudier particulièrement l'influence des différentes fractions isolées à partir du bacille de Koch, sur les réactions polynucléaires et histiocytaires et sur les rapports réciproques de durée, d'intensité et de précocité de ces deux réactions. La conception de Ch. Madelaine de la dérivation des polynucléaires a apporté une notion importante pour l'étude des réactions cellulaires dans la tuberculose.

***

Il ressort de toutes les considérations précédentes, qu'en ce qui concerne l'étude biologique des fractions isolées à partir du bacille de Koch, il convient de les étudier aux points de vue suivants :

1° Au point de vue de leur toxicité locale vis-à-vis des éléments cellulaires et générale vis-à-vis de l'organisme tout entier ;

2° Au point de vue de leur chimiotaxie cellulaire et des stades initiaux et des modalités de cette chimio-

taxie. Ensuite seulement il conviendra de les étudier à un point de vue plus purement anatomo-pathologique, en examinant les lésions cellulaires fixées qu'elles provoquent ;

3° Au point de vue de leur antigénie provocatrice, en recherchant si elles provoquent la formation d'anticorps chez l'animal et quelle est la nature de ces anticorps ;

4° Au point de vue de leur antigénie réceptrice, en étudiant si elles occasionnent des réactions et quelles sont ces réactions quand elles sont mises *in vivo* ou *in vitro* au contact d'anticorps préformés (par exemple cuti-réaction chez les animaux déjà tuberculeux, réaction de précipitation quand elles sont mises en présence d'un sérum précipitant) ;

5° Au point de vue de leur influence sur l'évolution des lésions tuberculeuses.

C'est à ces différents points de vue, et après avoir été éclairé par les notions qui ont été exposées dans la deuxième partie de l'ouvrage, que nous avons enfin abordé l'étude biologique des fractions qui ont été isolées à partir du bacille de Koch par les différents auteurs. Cette étude a fait l'objet de la troisième partie de notre travail.

***

Etude biologique des fractions extraites du bacille de Koch ; action histopathologique et physiopathologique des lipoïdes du bacille tuberculeux. — L'étude des propriétés biologiques des constituants du bacille de Koch tire un

intérêt de plus, du fait connu depuis longtemps à savoir que les bacilles morts conservent une toxicité notable à la fois pour les cobayes sains et pour les cobayes tuberculeux, et entraînent la formation de lésions tuberculeuses (166).

Nous avons envisagé d'abord les effets histopathologiques et physiopathologiques des fractions lipoïdes du bacille de Koch. Après avoir décrit rapidement les anciennes expériences d'Auclair, pratiquées avec l'éthéro et la chloroformo-bacilline, qui tendaient à établir que seules les graisses, les cires, du bacille de Koch sont douées de propriétés tuberculisantes, caséifiantes, et sclérosantes et après avoir discuté les conceptions de cet auteur et avoir rappelé aussi les anciennes recherches de H. Claude qui ont montré l'influence de la lécithine sur la résistance du cobaye à l'infection tuberculeuse, nous avons enfin étudié les travaux américains de F. Sabin, C. A. Doan et de leurs collaborateurs.

Ces auteurs ont nettement montré que les fractions lipoïdes isolées à partir du bacille de Koch étaient *les facteurs indéniables des réactions histopathologiques spécifiques de la tuberculose.*

Ils ont appelé lésion *tuberculaires* les lésions comprenant des tubercules et plus spécialement des amas plus ou moins diffus ou compacts de cellules épithélioïdes se produisant dans des conditions pathologiques autres que celles créées par le bacille de Koch.

(166) Nous avons laissé de côté dans ce travail la question des formes filtrantes du bacille de Koch pour des raisons que nous avons exposées aux pages 156 et 157.

Ils ont considéré comme lésions tuberculaires caractéristiques les images histopathologiques comprenant des cellules épithélioïdes et des cellules géantes de type Langhans agglomérées en amas ou dispersées.

Et ils ont appelé lésions générales ou non spécifiques toutes les autres réactions leucocytaires et tissulaires trouvées dans la tuberculose et reproduites par les fractions chimiques du bacille tel que l'afflux au niveau des tissus de polynucléaires venant du sang, la prolifération des fibroblastes, la néoformation de vaisseaux sanguins, l'augmentation du nombre des lymphocytes. Ils font entrer aussi dans ces lésions non spécifiques les cellules géantes à corps étrangers et l'augmentation de l'activité phagocytaire des clasmatocytes.

Après avoir défini clairement ce dernier élément, nous avons décrit les différents stades des réactions cellulaires observés après l'injection, surtout intrapéritonéale, des fractions lipoïdes isolées à partir des bacilles de Koch par J. R. Anderson.

Ces stades coïncident en tous points avec ceux que nous avons observés après injection intrapéritonéale de bacilles tuberculeux à des cobayes :

1° Polynucléose initiale, suivie de l'englobement et de la destruction plus ou moins complète des polynucléaires par les clasmatocytes ou grands macrophages qui affluent ;

2° Réaction épithélioïde. Formation de cellules géantes ;

3° Prolifération des cellules fixes indifférenciées du tissu conjonctif.

Toutefois, selon les fractions on observe des différences intéressantes :

La phosphatide A_3 paraît le constituant lipoïdique le plus actif, car elle produit la réaction la plus massive en cellules épithélioïdes et en cellules géantes.

Fait important : s'il se produit après une première injection de phosphatide A_3 un afflux de polynucléaires, après un certain nombre d'injections il ne se fait plus d'afflux initial de polynucléaires au lieu de l'injection : *certaines substances extraites des bacilles de* KOCH *peuvent donc entraîner une espèce de dérivation des polynucléaires.*

Les principes actifs de la formation des tubercules résident dans certains acides gras de poids moléculaire élevé trouvés dans les bacilles tuberculeux (acide phtioïque). Ces acides gras sont présents dans les quatre fractions principales des lipoïdes isolées par R. J. ANDERSON, l'activité spécifique de ces fractions étant corrélative dans chaque cas au taux d'acides gras, et à la proportion respective de chacun des acides gras qu'ils contiennent. *Il semble que la réaction cellulaire à l'introduction des lipoïdes dépende de la taille moléculaire de la fraction injectée.*

Par exemple la réaction initiale à la phosphatide A_3 après le stade initial de polynucléose, serait surtout une réaction clasmatocytaire marquée, tandis que la réaction à l'acide gras I, qui dérive de la phosphatide A_3 consisterait en une clasmatocytose moins intense, et la formation de cellules épithélioïdes à partir des éléments appelés par les auteurs américains monocytes serait plus précoce. Ces faits tendraient à prouver que dans le cas de substances à grosses molécules (phosphatides),

les cellules seraient d'abord occupées à un processus de désintégration chimique, tandis que dans le cas d'injection d'acide gras I, ledit processus ayant déjà été accompli *in vitro*, l'activité clasmatocytaire serait superflue.

La nature des corps lipoïdiques ou extraits de lipoïdes introduits donne donc aux réactions des caractères nettement spécifiques, variables dans une certaine mesure avec la composition chimique de la substance injectée.

Le tissu tuberculaire spécifique résultant de l'injection intrapéritonéale de la phosphatide A_3 subit au bout d'un certain temps une résorption. Il peut disparaître par deux mécanismes, semblables à ceux qui se produisent au cours de la maladie.

La caséification par laquelle des masses de cellules épithélioïdes dégénérées sont *infiltrées par les leucocytes polynucléaires.*

La phagocytose des débris cellulaires par les clasmatocytes, sans caséification.

Action histopathologique et physiopathologique de protéines du bacille tuberculeux. — Contrairement aux lipoïdes qui produisent surtout des effets locaux, l'action principale des protéines complexes extraite des corps bacillaires est un effet toxique général.

Mais ainsi qu'Auclair l'avait remarqué avec sa babacillo-caséine, l'intoxication générale se produit lentement : *elle ne paraît se manifester qu'après la désintégration du complexe protéique par les cellules de l'organisme.*

La bacillo-caséine d'Auclair entraîne aussi des effets

locaux : nodosités inflammatoires avec afflux polynucléaire et réactions épithélioïdes. Mais ces effets sont beaucoup moindres que ceux produits par les fractions proprement lipoïdiques ; il est possible d'ailleurs que la bacillo-caséine contienne encore des lipoïdes en petite quantité.

Les protéines 304, 903, 304 A, 304 B, qui sont des protéines complexes extraites par T. B. Johnson et R. D. Coghill à partir des bacilles tuberculeux humains ont été étudiés biologiquement par C. A. Doan, F. R. Sabin et leurs collaborateurs. Elles produisent des effets généraux modérément toxiques pour les lapins sains et les cobayes sains, qui maigrissent et perdent de l'appétit, mais elles sont hypertoxiques pour les animaux tuberculeux (*effet tuberculinique*). Ce sont elles qui sont responsables de l'élévation thermique qui suit leur injection chez l'animal tuberculeux.

Localement elles ne donnent pas naissance à du tissu tuberculaire ; il y a une réaction initiale polynucléaire, puis clasmatocytaire. Il se produit des abcès et des hémorragies par place. On peut d'ailleurs observer après injection de protéine bacillaire la production de lésions de caséification.

L'injection intrapéritonéale de tuberculine ancienne produit chez le cobaye sain un afflux polynucléaire, puis histiocytaire, avec dégénérescence picnotique des polynucléaires (R. F. Le Guyon et J. Albert-Weil). Il semble que dans l'infection tuberculeuse ce soit peut-être pour une part notable le principe actif de la tuberculine diffusant à partir des *B. K. vivants qui agisse sur les polynucléaires et provoquent leur picnose.*

Action histopathologique et physiopathologique des complexes hydrocarbonés isolés à partir du bacille tuberculeux. — La fraction polysaccharique isolée du bacille de KOCH (fraction A_S de R. J. ANDERSON) entraîne une forte réaction polynucléaire *qui se renouvelle à chaque injection.* Elle semble tirer sa toxicité pour le cobaye tuberculeux d'éléments protéiques qui seraient contenus également en faible dose dans la fraction A_S et qui *verraient leur toxicité exaltée par la polysaccharide.*

***

Antigénie tuberculeuse et pouvoir antigénique des fractions isolées à partir du bacille de Koch. — En ce qui concerne la *production* des anticorps, décelés par la réaction de fixation du complément, ni les lipoïdes ni les éléments hydrocarbonés ne semblent jouer un rôle très actif ; *le facteur véritablement actif est constitué par les substances protéiques.* Les fractions lipoïdes possèdent par elles-mêmes un pouvoir antigénique provocateur assez faible et les extraits lipoïdes bacillaires qui ont été expérimentés à ce point de vue, tels l'antigène méthylique ou les extraits acétoniques bacillaires de BOQUET et NÈGRE, contiennent vraisemblablement des protéines bacillaires en petite quantité ; aussi leur action antigénique ne peut-elle pas probablement être imputée exclusivement à des constituants lipoïdes. L'extrait acétonique de bacilles tuberculeux produit des anticorps décelables par la réaction de fixation du complément pratiquée en employant comme antigène l'extrait acétonique ou la tuberculine brute.

L'antigène méthylique purifié par l'acétone se comporte *in vitro* comme un anticorps très actif. Son action antigénique provocatrice est modérée. Les anticorps qu'il produit réagissent uniquement avec l'antigène spécifique. (Nous avons étudié avec R. F. Le Guyon par des expériences personnelles les réactions cellulaires du cobaye à l'antigène méthylique, voir p. 207.)

Graisses, cires et phosphatides du bacille de Koch sont bien des antigènes d'après Boquet et Nègre, mais des *antigènes à champ restreint, des antigènes partiels pour employer la formule de* Much.

En parfaite conformité avec les travaux de Boquet et Nègre, M. Pinner a constaté que de presque toutes les fractions lipoïdes isolées par R. J. Anderson, seule la fraction A_3 est un antigène complet *lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse à des lapins. Mais il est possible aussi que son antigénie provocatrice soit due à des éléments protéiques unis à des lipoïdes.*

L. Dienes a mis en évidence la complexité de la structure antigène des bacilles de Koch. Il a pu extraire des bacilles par des techniques variées 7 à 11 complexes lipoïdo-protéiques et protéiques, doués de propriétés antigènes différentes.

Pour Dienes, *la notion de la complexité de la structure antigène et la constatation de propriétés nettement différentes (spécificité antigénique différente, pouvoir antigénique plus ou moins marqué, intégral ou partiel) pour chacun des divers antigènes est d'un très grand intérêt.*

Elle confirme les conceptions de Zinsser, concernant la constitution antigénique de la cellule bactérienne.

Selon DIENES plusieurs antigènes lipoïdiques (ou plutôt lipoïdo-protéiques) et protéiques extraits du bacille de KOCH ont des caractéristiques *d'haptènes*. D'autres ont un effet antigénique provocateur prononcé.

Il ressort des recherches de BOQUET et NÈGRE et de L. DIENES *que les modifications qualitatives et quantitatives que déterminent les bacilles tuberculeux et leurs extraits, en ce qui concerne la formation des anticorps, sont d'autant plus intenses que les substances injectées sont chimiquement plus complexes et plus riches en protéines bacillaires.*

L'effet antigénique *in vivo* est d'habitude dévolu au groupe d'antigènes les plus complexes dans lesquels les substances protéiques semblent jouer un rôle important.

Les fractions polysaccharides des bacilles de KOCH ont peu d'effets antigéniques *in vivo* et *in vitro*.

Les protéines bacillaires sont donc les antigènes les plus actifs. Lorsqu'elles sont suffisamment complexes, elles ont une action antigénique provocatrice *in vivo*. Fractionnées ou dégradées du fait d'un processus métabolique, elles n'ont plus qu'un pouvoir antigénique récepteur (à condition bien entendu que le fractionnement ne soit pas poussé trop loin). *Plus le fractionnement protéique est considérable et plus le produit obtenu s'éloigne du complexe originel, moins l'effet antigénique est étendu.* Le ou les principes actifs de la tuberculine (acide tuberculinique de T. B. JOHNSON, etc.) qui sont des antigènes protéiques dégradés *se comportent comme des véritables haptènes.*

Les seuls agents provocateurs de l'état allergique et

de la sensibilité tuberculinique dans la tuberculose sont les protéines bacillaires complexes. *Les bacilles tuberculeux intégraux sont les agents les plus actifs pour l'éclosion dans un organisme de la sensibilité tuberculinique.* Dans le complexe bactérien, l'action antigénique des protéines est probablement activée par les lipoïdes.

***

L'allergie tuberculeuse. — Les fractions lipoïdes et polysaccharidiques étant par elles-mêmes *absolument étrangères à l'état allergique*, et les lipoïdes jouant cependant un rôle important dans la formation des tubercules, il semble donc que *dans les tuberculoses les réactions allergiques ne dépendent théoriquement en aucune façon de la lésion cellulaire, du tubercule en soi, mais qu'elles sont liées vraisemblablement à la présence dans l'organisme des protéines bacillaires hydrosolubles.* Zinsser a établi toutefois que lorsqu'il s'agit de bacilles entiers qui ont été inoculés, il semble y avoir un parallélisme général entre l'étendue de la réaction locale aux bacilles injectés, et le degré de la sensibilité tuberculinique : ceci s'explique par le fait que la sensibilité tuberculinique est fonction dans une certaine mesure de la plus ou moins grande quantité de bacilles introduits dans l'organisme. La libération ou la diffusion des protéines bacillaires et la désintégration plus ou moins marquée des bacilles eux-mêmes dépend des réactions cellulaires à l'infection bacillaire.

La sensibilité tuberculinique est corrélative dans la tuberculose aux réactions antigènes-anticorps. Les

protéines bacillaires sensibilisantes sont susceptibles de provoquer des modifications humorales, mais les réactions morbides dues à l'état de sensibilisation ne pourraient se manifester qu'au fur et à mesure de la dissociation des protéines bacillaires *libérant à partir des foyers tuberculeux diverses fractions des complexes primitifs susceptibles de réagir.*

Il se peut aussi, comme le voudrait M. Nicolle, dans sa théorie des actions lytiques, que les humeurs du tuberculeux contiennent une « lysine », susceptible lorsqu'elle est en contact, par exemple, avec de la tuberculine ancienne de Koch (ex. cuti-réaction), de dissocier les protéines bacillaires entrant dans ce produit, et de libérer le principe actif tuberculinique susceptible de réagir. Cette lysine serait plus active au voisinage des foyers tuberculeux (Cf., cuti-réactions différentielles de Huc).

L'allergie, proche parente de l'anaphylaxie, puisqu'elle ne peut être créée que par des protéines, s'en différencie par ce fait, que la substance déchaînante, qui est toujours d'origine protéique, peut cependant différer dans une certaine mesure en ce qui concerne la taille moléculaire, et les proportions des constituants moléculaires, de la substance sensibilisante dont elle peut souvent n'être qu'une des fractions ; cette fraction ne serait pas en mesure de créer par elle-même l'état de sensibilisation. Elle ne produirait que des effets plus ou moins incomplets et parfois plus lents que dans le cas de certaines réactions proprement anaphylactiques.

Il découle des notions qui précèdent que les réactions allergiques sont évidemment moins strictement spécifiques que les réactions proprement anaphylactiques.

La persistance de l'état allergique est due, au cours des tuberculoses, à ce que les bacilles demeurent longtemps vivants, peuvent même dans d'assez nombreux cas proliférer dans l'organisme, et suscitent donc une active formation d'anticorps ; d'autre part, du fait que simultanément de nombreux bacilles peuvent être plus ou moins partiellement détruits, et peuvent libérer par conséquent des fractions diverses déchaînantes, ou que les bacilles peuvent laisser diffuser en dehors d'eux des fractions ayant comme les précédentes une fonction haptène, et susceptibles par conséquent de réagir plus ou moins violemment avec les anticorps préformés, on s'explique l'apparition et la persistance d'accidents pathologiques qui sont des manifestations allergiques.

***

Dans la tuberculose ainsi que l'a montré Zinsser, on peut observer d'une part des réactions d'ordre vraiment anaphylactique provoquées par les protéines bacillaires complexes et la sensibilité anaphylactique peut être créée par l'injection à l'animal de diverses protéines bacillaires. Cette sensibilité anaphylactique peut être décelable par exemple par des cuti-réactions pratiquées avec des protéines complexes contenues dans les préparations de ce qu'on appelle tuberculine ancienne de Koch ; dans ce cas les cuti-réactions se manifestent précocement dans les premières heures suivant les scarifications cutanées et sont très passagères contrairement aux cuti-réactions proprement tuberculiniques qui se manifestent surtout après vingt-quatre heures et sont plus durables.

Tableau 14

Tableau récapitulatif des lésions et manifestations pathologiques observées dans la tuberculose dans leur relation probable avec les fractions chimiques isolées des bacilles.

Manifestations pathologiques	Fractions bacillaires
Tubercules.	Phosphatide (type A_3 de R. J. Anderson).
Réactions conjonctives non spécifiques.	Cires et protéines (Purified wax).
Polynucléose locale et initiale marquée.	Toutes les fractions, mais surtout polysaccharides (l'afflux polynucléaire ne se produit plus vis-à-vis des phosphatides introduites après des injections préalables de phosphatide pratiquées au même endroit).
Polynucléose sanguine.	Est en rapport avec les formes évolutives et fébriles (protéine ?) Résorption de produits toxiques à partir de foyers caséifiés. Manifestations allergiques ? etc.
Rapport monocytes-lymphocytes dans le sang.	Est en rapport avec la plus ou moins grande localisation cellulaire locale du processus tuberculeux et l'intensité des réactions histiocytaires et monocytaires locales (réaction à la phosphatide). S'élève dans les tuberculoses évolutives fébriles.
Mort aiguë toxique expérimentale.	Protéines bacillaires et polysaccharides ?
Effet toxique général plus ou moins rapide (amaigrissement).	Protéines bacillaires.
Provocation de l'état de sensibilisation allergique chez les sujets sains.	Protéines bacillaires complexes mais surtout corps bacillaires intégraux (bacilles vivants plus actifs que bacilles morts).
Provocation d'accidents allergiques chez les sujets déjà tuberculisés	Protéines bacillaires complexes et fractions protéiques à fonction haptène contenant le principe actif de la tuberculine (acide tuberculinique.)
Caséification.	Protéines et phosphatides ?
Élévation thermique chez les sujets sains.	Protéines *complexes* du bacille.
Élévation thermique chez les sujets déjà tuberculisés.	Protéines complexes du bacille, et fractions *haptènes* contenant le principe actif de la tuberculine (acide tuberculinique.)
Accidents anaphylactiques.	Protéines bacillaires.
Don d'une spécificité réactionnelle particulière aux protéines du bacille, et activation de leurs propriétés.	Lipoïdes bacillaires et polysaccharides ?

On peut observer d'autre part des manifestations allergiques proprement dites constituées par ces réactions de sensibilité des organismes tuberculeux aux principes actifs de la tuberculine, qui se comportant en haptènes, réagissent avec les anticorps *préformés*. La tuberculine n'est donc pas toxique pour les animaux sains. Notons par ailleurs, pour terminer que l'hypersensibilité tuberculinique, va en général de pair avec un certain degré de résistance aux surinfections. Mais l'hypersensibilité tuberculinique, et résistance aux surinfections sont deux états distincts.

Influence des injections de fractions bacillaires sur l'évolution des tuberculoses. — Cette question a fait l'objet du dernier chapitre de la 3^{me} partie. L'antigène méthylique de Boquet et Nègre semble avoir une action retardante sur l'évolution de certaines tuberculoses humaines et expérimentales.

CHAPITRE II

CONCEPTION GÉNÉRALE DES PROCESSUS PATHOGÉNIQUES DE LA TUBERCULOSE ET DÉDUCTIONS THÉRAPEUTIQUES

Toutes les notions qui précèdent nous amènent à concevoir la tuberculose comme une maladie :

d'une part à manifestations purement locales,

d'autre part à manifestations générales.

Effets locaux. — Les manifestations locales sont le fait des réactions cellulaires et exsudatives locales et par conséquent des formations et lésions histopathologiques créées par les bacilles au niveau des tissus et de l'évolution de ces lésions. Les formations histopathologiques comportent dans le cours de leur édification des stades de réaction cellulaire bien déterminés qui ont des effets divers en ce qui concerne l'arrêt et la localisation ou la dispersion des bacilles, et leur désintégration ou leur emmurement. La polynucléose locale, suivie de polynucléose sanguine et l'élévation du taux monocytaire sanguin par rapport au taux des lymphocytes indiquent, nous l'avons vu, un processus de dispersion plus ou moins étendu. Les réactions cellulaires

peuvent être diverses les *unes étant strictement spécifiques*, les *autres étant des processus inflammatoires plus banaux*. Par conséquent des lésions d'ordre très différent et des formes anatomo-pathologiques diverses peuvent être observées au cours des tuberculoses.

Les divers ordres de lésions observées ont été expérimentalement reproduits par diverses fractions extraites du bacille de Koch ayant chacune dans une certaine mesure une action particulière sur la réaction cellulaire. Il semble donc que selon la composition chimique de la souche bactérienne infectante, selon sa virulence, selon le nombre de bacilles infectants, selon la plus ou moins grande diffusibilité de leurs éléments protéiques, leur teneur en lipoïdes, etc., selon la puissance réactionnelle des éléments cellulaires de l'organisme tuberculeux et leur plus ou moins grand pouvoir pexique ou phagocytaire, selon d'autre part l'état de sensibilisation ou de non sensibilisation antérieure de l'animal ou de l'homme tuberculisés, on observe des lésions et des formations cellulaires de divers ordres et en diverses proportions les unes par rapport aux autres. Selon ces divers cas il semble aussi que l'on observe des modalités évolutives diverses des réactions cellulaires.

Par ailleurs, il semble exister un rapport entre la composition chimique du tissu ou de l'organe où se sont localisés les bacilles et la virulence et la composition chimique de ces bacilles. Les bacilles tirent en effet les éléments nécessaires à leur prolifération et à leur nutrition dans le milieu dans lequel ils poussent. Il est certains organes, tels par exemple le corps thyroïde (ce fait est dû peut-être à la teneur de cet organe en

iode), ou le pancréas (167), sur lesquels les localisations bacillaires sont rares. Il y aurait un important travail à faire sur les rapports existant entre la composition chimique des organes, et la composition chimique des bactéries susceptibles de les infecter et leur virulence, et sur les rapports existant entre la composition chimique des organes et les localisations et manifestations infectieuses qu'ils peuvent présenter (168).

Ce qu'il y a de très important à comprendre lorsqu'on envisage le problème de la tuberculose et les modalités évolutives de cette maladie, c'est que le bacille qui n'est attaqué et désintégré que lentement et souvent très incomplètement ou même pas du tout par les cellules phagocytantes agit en deux étapes (ou pour parler plus exactement selon deux modes) :

Dans une première étape, qui parfois est extrêmement courte (forme hypertoxique, granulie) et parfois fort longue (formes larvées, latentes, etc...), il agit en bloc en tant que corps bacillaire, ce corps bacillaire est en somme un *corps étranger* pouvant produire cependant

(167) On connaît les récents et derniers travaux d'Auclair, et ses essais de vaccination antituberculeuse par des extraits pancréatiques glycérinés, contenant en émulsion des bacilles tuberculeux vivants, ou morts. *Ces tentatives, quelques hardies et même parfois contestables qu'elles soient, mériteraient d'être reprises, et approfondies.* Auclair semble avoir obtenu des résultats intéressants.

Jules Auclair : *Vaccination préventive et curative du cobaye et du lapin contre la tuberculose humaine.* Masson et Cie, éditeurs, 1930.

(168) De telles recherches sont d'ailleurs déjà ébauchées. On sait en effet par exemple que Duran-Reynals a montré que des extraits orchitiques pouvaient conférer à certaines cultures microbiennes une virulence particulière (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, t. XCIX, p. 6 ; *J. Exp. Med.*, 1929, p. 327).

du fait des lipoïdes qui infiltrent sa masse des lésions spécifiques.

Au cours de cette première étape, d'ailleurs, il laisse vraisemblablement diffuser des substances protéiques ou lipoïdo-protéiques qui sensibilisent le sujet et peuvent entraîner des manifestations allergiques, mais qui ne produisent que rarement des effets toxiques généraux (très souvent en effet les effets toxiques généraux font défaut : exemple, tuberculeux florides avec grosses lésions locales). Toutefois les destructions cellulaires qui peuvent s'observer dans les lésions locales sont aussi facteurs d'intoxication générale, les produits provenant de la destruction des cellules, de la caséification, étant résorbés.

Dans une deuxième étape (mais peut-on parler vraiment de deuxième étape ? les phénomènes qui la caractérisent sont très souvent concomitants avec ceux de la première étape. Il va de soi en effet que les corps bacillaires ne sont pas tous désintégrés ou digérés et attaqués en même temps. Selon les éléments cellulaires et les localisations, il arrive que de très nombreux bacilles demeurent longtemps en apparence intacts tandis que d'autres sont plus ou moins fragmentés par exemple), le bacille subit du fait des diastases cellulaires une désintégration plus ou moins marquée. Des produits de fractionnement cellulaire, lipoïdiques, protéiques, polysaccharidiques, peuvent être libérés produisant de nouveaux effets pathologiques.

Auclair et Paris déjà, avaient constaté que leur bacillo-caséine ne produisait que lentement des effets sur l'état général des animaux alors qu'elle avait une

action locale presqu'immédiate et ils en avaient conclu que s'il n'est pas nécessaire *que le protoplasma bacillaire meure pour attirer à lui les éléments cellulaires*, il ne peut donner d'intoxication générale, que lorsqu'il a été plus ou moins digéré, digestion qui amène la mort du micro-organisme.

On est ainsi conduit de toute évidence, ainsi qu'Auclair et Paris l'avaient déjà remarqué (169) « *à cette « conclusion quelque peu inattendue mais logique d'un « germe devenant surtout toxique après sa mort.* Le cadavre « est chargé de poursuivre et de compléter l'œuvre du « microbe vivant » et Auclair et Paris ajoutaient dans une vue véritablement prophétique comme s'ils avaient pressenti les travaux de Landsteiner et de Zinsser « ces faits acquis aujourd'hui en ce qui con- « cerne la tuberculose ne sauraient être isolés, des cons- « tatations de même ordre seront faites un jour pour « la plupart, sinon pour tous les microbes pathogènes, « pour tous ceux du moins, dont les manifestations infec- « tieuses sont plus marquées et plus importantes que « leurs effets toxiques immédiats. *Peut-être même ces « notions seront-elles étendues à toutes les affections para- « sitaires dont la cause morbigène évolue dans le sang ou « au sein des tissus* (170) ».

***

La constitution chimique du bacille de Koch subit vraisemblablement des oscillations, et il est probable

(169) J. Auclair et L. Paris, *Archives de médecine expérimentale*, Masson et Cie, éditeurs, t. XX, 1908, p. 749.
(170) *Id.*, *Arch. Med. Exper.*, t. XX, 1908, p. 749.

que les rapports et les combinaisons entre les cires, les graisses, les acides gras, les phosphatides, les éléments polysaccharriques et protéiques varient ; il est difficile toutefois d'établir des rapports particuliers de proportionnalité entre ces divers éléments pour chaque race de bacilles. *Il est à supposer qu'il existe un rapport entre la constitution chimique du bacille et sa virulence.* Des bacilles cultivés sur certains milieux particuliers, tels le B. C. G. *modifient assurément leur composition*, et perdent leur virulence. Leurs fractions sont donc beaucoup moins susceptibles de produire des effets nocifs. Toutefois, ils gardent leur activité tuberculinique.

***

La libération de diverses fractions à partir des corps bacillaires peut donc produire des effets locaux et des effets généraux. De nouvelles réactions locales se surajoutent et viennent compliquer et modifier peut-être les lésions histopathologiques anciennes. Il peut se produire du fait des réactions cellulaires successives locales et générales de l'organisme tuberculisé, et de la phagocytose bacillaire, *un véritable cercle vicieux pathologique* (on pourrait par exemple supposer qu'une fraction polysaccharide libérée en même temps que d'autres fractions serait susceptible de provoquer un afflux polynucléaire intense pouvant disloquer des formations histopathologiques organisées, etc...). *Les accidents allergiques produisent d'ailleurs aussi des mobilisations cellulaires.*

***

Effets généraux. — Les effets généraux produits par la *libération* ou la diffusion d'éléments protéiques bacillaires peuvent être de trois ordres :

d'ordre proprement toxique ;

d'ordre anaphylactique ;

d'ordre allergique.

Cette distinction en trois ordres est d'ailleurs assez artificielle, car une même protéine bacillaire peut être à la fois toxique et produire dans un organisme déjà sensibilisé des effets anaphylactisants ou allergisants. Elle peut être d'ailleurs selon les cas soit sensibilisante, soit déchaînante.

Nous devons à ce propos, citer une observation des plus intéressantes présentée récemment à la *Société Médicale des Hôpitaux*, par MM. F. Bezançon, Mathieu-Pierre Weil, J. Delarue et V. Oumanski (*Société Méd., des Hôpitaux*, séance du 15 mai 1931, *Bull. Soc. Méd., Hôpitaux*, n° 17, 25 mai 1931, p. 821), et qui vient singulièrement à l'appui de notre thèse. Il s'agit d'un cas de « polyarthrite chronique tuberculeuse avec hypersensibilité considérable à la tuberculine ». La malade en question a présenté une succession et une intrication de manifestations anaphylactiques et allergiques, à savoir : En 1924 une série de crises aiguës fébriles de prurit et d'urticaire d'une durée de quelques jours et s'étant reproduites fréquemment pendant 6 mois.

Au début de 1926 une seconde crise identique aux précédentes.

En fin 1926 une crise de polyarthrite localisée aux mains, ayant laissé à sa suite des déformations persistantes.

En 1928 une crise de rhumatisme articulaire aigu et généralisé d'une durée de 15 jours, avec des rechutes nombreuses pendant 6 mois.

Ces crises rhumatismales s'accompagnèrent d'une reprise des manifestations prurigineuses et urticariennes anciennes.

En 1929 une crise de rhumatisme aigu généralisé qui laissa à sa suite une hydarthrose chronique.

En 1930 une nouvelle crise aiguë articulaire généralisée.

Durant ce temps, la malade fut d'une *sensibilité extrême à la tuberculine*. Soumise à la tuberculinothérapie à dose très faible, elle fit une poussée fluxionnaire intense, s'accompagnant par ailleurs de *prurit et d'urticaire*. Cette poussée fut suivie d'un amendement progressif des symptômes.

La nature tuberculeuse des manifestations articulaires fut prouvée par l'inoculation au cobaye du liquide d'Hydarthrose.

Les effets généraux produits par la libération ou la diffusion d'éléments protéiques bacillaires, en modifiant l'équilibre des humeurs, retentissent évidemment sur les réactions cellulaires.

Ainsi s'expliquent aisément à la fois l'intoxication plus ou moins marquée et plus ou moins rapide qui peut se produire au cours des tuberculoses (171), et ces poussées évolutives qui viennent compliquer des pro-

(171) *La distinction entre manifestations allergiques et anaphylactiques dans la tuberculose, et manifestations toxiques peut sembler très logique, mais elle est souvent difficile à faire.* Dans un article fort intéressant paru récemment (*a*) H. Claude et H. Baruk citent quelques observations de sujets tuberculeux présentant des troubles psychiques pendant les périodes d'amélioration, ou de guérison clinique de leurs manifestations tuberculeuses, troubles s'amendant au contraire au cours de nouvelles poussées évolutives. Il se peut que les manifestations démentielles soient sous la dépendance de la fixation à très petite dose de poisons tuberculeux diffusibles sur les centres nerveux. On sait que Borrel a montré, il y a longtemps déjà, la très grande affinité de la tuberculine ancienne de Koch pour le système nerveux. Mais ladite tuberculine est infiniment plus toxique, et à dose beaucoup plus faible, lorsqu'elle est inoculée par voie intracérébrale chez un animal tuberculeux que chez un animal sain. Sa toxicité pour le système nerveux est sous la dépendance de l'état de sensibilisation antérieure du sujet. Les faits relatés par Claude et Baruk sont donc d'interprétation délicate, et méritent une étude approfondie tant clinique que bactériologique. L'étude de l'action

cessus tuberculeux locaux et s'accompagnent d'une aggravation et d'une extension des lésions locales. La tuberculose, comme d'autres maladies voisines à bacilles acido-résistants, telle que la lèpre, *est une affection évoluant par poussées.*

Il est vraisemblable que les poussées évolutives de la tuberculose correspondent à des décharges plus ou moins importantes de protéines bacillaires ou de complexes bacillo-cellulaires, provenant de la désintégration conjointe des bacilles et des cellules qui les ont phagocytées. Ces protéines peuvent être soit des antigènes complets, *soit plutôt des substances à fonction haptène*, qui réagissent avec des anticorps préformés dans l'organisme, et entraînent de ce fait les manifestations allergiques (poussées, etc..).

***

Déductions thérapeutiques (172). — On conçoit d'après tout ce qui précède, combien délicat et difficile est le problème thérapeutique de la tuberculose. Une thérapeutique proprement et strictement étiologique devra faire craindre une trop grande destruction bacillaire susceptible de produire des effets extrêmement nuisibles.

Dans le cas d'une tuberculose locale sans réaction

de diverses fractions du B. K. sur le système nerveux pourra amener peut-être des éclaircissements sur cette question.

(*a*) H. Claude et H. Baruk, *Tuberculose et démence précoce* (*Paris Médical*, 27 déc. 1930, nº 52, p. 571).

(172) Nous n'envisageons dans ces déductions qu'une faible partie des agents thérapeutiques possibles de la tuberculose.

générale, la mort des bacilles serait peut-être utile, mais à condition que la destruction bacillaire n'entraîne pas une décharge massive dans l'organisme de produits de désintégration des bacilles. L'exaltation du pouvoir de digestion cellulaire des éléments dits de défense ne pourrait, si un trop grand nombre de bacilles étaient subitement détruits, qu'avoir des effets néfastes.

La digestion des bacilles par les cellules est en effet le plus souvent incomplète.

Il ne faudrait pas non plus que la mort d'un trop grand nombre de bacilles cause une mobilisation plus ou moins rapide des divers éléments cellulaires. En matière de tuberculose, la vieille thérapeutique antiphlegmasique, et cela aussi est une conclusion de nos études sur les réactions cellulaires dans la tuberculose, *est toujours dans bien des cas la meilleure.* Toutes les notions que nous avons acquises dans le cours de cet ouvrage, nous font comprendre clairement pourquoi la limitation et le ralentissement des réactions cellulaires et de la vitesse de circulation dans les capillaires produits par une immobilisation plus ou moins parfaite d'un organe tuberculeux, amènent souvent des des effets heureux.

C'est en effet, nous l'avons vu, « par la fixation *in* « *situ* des germes virulents, par la délimitation de plus « en plus étroite du champ de leur action pathogène, « éventuellement par leur destruction (à condition « qu'elle ne soit pas massive mais progressive) et leur « élimination que se caractérise la résistance des orga- « nismes tuberculeux ou prémunis aux surinfections « homologues (Boquet et Valtis) ».

On pourrait donc concevoir que des médicaments susceptibles de diminuer les réactions générales ou locales au cours des tuberculoses puissent avoir un effet utile dans certains cas.

On peut poser en principe qu'en matière de tuberculose, tout *agent thérapeutique susceptible de produire une mobilisation cellulaire, surtout polynucléaire, brutale et rapide au niveau des lésions a en général un effet néfaste.*

L'agent thérapeutique idéal serait celui qui permettrait une destruction progressive et relativement lente des bacilles de Koch, *en empêchant tout d'abord et surtout leur prolifération dans l'organisme.* Les sels d'or utilisés *à petites doses* dans la thérapeutique de la tuberculose pulmonaire ou cutanée, ou ganglionnaire agissent peut-être de cette manière. Ainsi, l'élimination des bacilles en dehors de l'organisme pourrait se faire progressivement. Tout agent bactéricide trop brutal ne peut avoir le plus souvent que des effets malheureux. La gravité de la tuberculose réside en effet pour une grande part, dans les manifestations allergiques qu'on y observe et c'est pourquoi des tentatives de désensibilisation de l'organisme par des fractions extraites du bacille de Koch ou par tout autre moyen, serait un grand intérêt.

La thérapeutique en somme pourrait tendre à agir sur les réactions cellulaires, sur l'état de sensibilisation allergique, sur la formation des anticorps, bien que ceux-ci ne jouent peut-être pas par eux-mêmes un rôle actif dans la défense, etc. Les traitements avec *certains extraits bacillaires*, les essais prudents de tuberculi-

nothérapie (173), les diverses tentatives de vaccination seraient susceptibles vraisemblablement d'agir dans ces différents sens.

Les études que nous avons faites et exposées dans le cours de cet ouvrage nous font concevoir en outre un autre mode de thérapeutique susceptible d'entraver ou de retarder la prolifération des bacilles dans l'organisme. Les bacilles de Koch, en effet, qui se multiplient dans un organisme tuberculeux tirent assurément leurs éléments constitutifs du milieu de culture constitué par cet organisme. Toute thérapeutique susceptible d'influencer le milieu humoral ou de modifier le taux des substances pouvant être utilisées par le bacille pour élaborer ses constituants, pourrait peut-être donner des résultats, car la composition des complexes toxiques bacillaires s'en trouverait modifiée ; pourraient être modifiées également les substances toxiques produites par la dégénérescence des cellules des tissus tuberculisés. Il serait possible peut-être, de modifier dans une certaine mesure le milieu intérieur et les réactions cellulaires par des extraits d'organes. (Extrait splénique par exemple ? J. C. Bayle, *Rev. de Path. comparée*, séance du 20 juin 1930.)

Tout récemment Carle et Leuret de Bordeaux (174)

(173) On sait que la tuberculine, ainsi que l'ont montré L. Dienes d'une part, et Verge, d'autre part, injectée à des organismes *déjà* tuberculeux élève le taux des anticorps.

(174) *a*) Jacques Carles et François Leuret, *Traitement des tuberculoses par le chlorhydrate de choline* (*Acad. de Med.*, séance du 18 février 1930.)

b) Carles et F. Leuret, *Tuberculose et chlorhydrate de choline* (*Le Progrès Médical*, nº 44, 1930 et XXIe Congrès français de Med., Liége, 23-27 septembre 1930).

ont préconisé l'injection sous-cutanée de chlorhydrate de choline qui d'après eux ferait monter le taux *du cholestérol* dans l'organisme (cette élévation du taux du cholestérol pourrait peut-être d'ailleurs favoriser la calcification ou la sclérose des lésions tuberculeuses). On connaît d'autre part les recherches intéressantes, quoique non entièrement couronnées de succès des auteurs allemands SAUERBRUCH et GERSON (175), qui ont institué un traitement diététique de la tuberculose.

Dans un autre ordre d'idées on sait que certaines affections à bacilles acido-résistants telles que la lèpre sont traitées par *certaines huiles végétales* telles que l'huile de chaulmoograa.

Cette huile contient certains acides gras dont l'acide palmitique. POWER et ses collaborateurs y ont découvert et étudié deux acides non saturés cycliques dérivant du cyclopentène avec une longue chaîne latérale, fixée au noyau : l'acide chaulmoogrique isomère de l'acide linoléique et l'acide hydnocarpique ; on sait que les lipoïdes du bacille de KOCH contiennent de nombreux acides gras, dont l'acide palmitique et l'acide linoléique. Il est possible que les acides chaulmoogriques agissent parce que non saturés ; ils pourraient ainsi donner des produits d'addition, et leurs sels sodiques agiraient sur la composition des constituants lipoïdo-cireux des bacilles acido résistants (ROGERS).

(175) *a*) N. GERSON, *Principes fondamentaux du Régime de Gerson* (*Münch. Mediz. Wochenschrift*, t. LXXVII, n° 23, 6 juin 1930).

b) HERMANNSDORFER, *Le traitement diététique pré et post-opératoire au cours de la chirurgie de la tuberculose pulmonaire* (*Zeit. für Tuberkulose*, t. LV, n° 1, 1929).

WALKER et SWEENEY, puis SCHOBL ont constaté l'action bactéricide des sels sodiques de ces acides sur les bacilles acido-résistants et les deux premiers auteurs admettent que pour la formation de leurs éléments lipoïdo-cireux ces bacilles utilisent ces acides cycliques, qui entraîneraient avec eux un radical toxique pour la cellule bactérienne (176).

En dehors des thérapeutiques ci-dessus mentionnées, on sait, par ailleurs, qu'il est des cas ou des tuberculeux ont retiré des avantages de l'ingestion d'huile de foie de morue.

Dans un autre ordre d'idées, certains auteurs préconisent les injections sous-cutanées de *Cinnamate de Benzyle*, ou ses dérivés. Il y a peut être dans cette direc- une voie intéressante à suivre.

On voit donc quelles possibilités intéressantes sont susceptibles d'ouvrir les études chimiques et bactériologiques sur les constituants du bacille de KOCH.

(176) L. PLANCHON, *Précis de Matière Médicale*, revu par Ph. BRETIN. N. Maloine, éditeur, 1928, p. 556 et 558.

A côté de l'huile de chaulmoograa il existe d'autres huiles riches en acide chaulmoogrique, par exemple l'huile extraite des graines d'hydnocarpus anthelminthica arbre croissant au Siam et en Indo-Chine, ou celles données par les graines d'Oncoba echinata qui pousse dans les forêts tropicales africaines.

CHAPITRE III

CONCLUSIONS

1° L'étude des constituants du bacille tuberculeux a montré qu'au point de vue histopathologique chacune des diverses fractions isolées à partir des bacilles exerce chez l'animal des actions qui lui sont propres :

Les unes sont responsables des formations tuberculeuses spécifiques ; il s'agit surtout des lipoïdes, type phosphatide A_3 de R. J. Anderson ;

Les autres provoquent surtout des réactions histopathologiques non strictement spécifiques (Afflux polynucléaire. Histiocytose, prolifération des cellules fixes indifférentiées du tissu conjonctif, etc.). Il s'agit des *fractions protéiques*, des fractions polysaccharides, et de certaines cires ;

2° Les effets généraux sont surtout le fait des fractions protéiques, et sont vraisemblablement *la conséquence de la désintégration de corps bacillaires dans l'organisme.* L'action tuberculinique est l'apanage de protéines complexes, et de certaines de leurs fractions contenant un acide nucléique du type acide tuberculinique de T. B. Johnson et E. B. Brown. Toutefois les

principes actifs de la tuberculine étant ultrafiltrables (R. F. Le Guyon et J. Albert-Weil), peuvent diffuser dans l'organisme à partir des corps bacillaires plus ou moins intacts.

Par ailleurs, il peut se produire dans certains cas des complexes bacillo-cellulaires (caséification ?), qui peuvent produire dans l'organisme des effets toxiques généraux ;

3° L'action des protéines bacillaires est activée par les lipoïdes du bacille et vraisemblablement aussi par les fractions polysaccchariques ;

4° Les protéines bacillaires jouent le rôle principal en tant qu'antigènes provocateurs de la formation des anticorps. La formation des anticorps est d'autant plus intense que les substances injectées sont plus riches en protéines bacillaires, mais aussi qu'elles sont plus complexes (action activante des lipoïdes). Le B. K. vivant et entier constitue l'antigène tuberculeux intégral et le plus actif. Le B. K. a une structure antigène très complexe, et de nombreux complexes antigènes protéiques, et lipoïdo-protéiques peuvent en être extraits ;

5° *L'état de sensibilisation allergique est surtout la conséquence de l'introduction dans l'organisme de bacilles entiers et vivants.* Mais les manifestations pathologiques de l'allergie sont vraisemblablement produites par la libération de fractions protéiques plus ou moins complexes, contenant dans leur molécule l'acide tuberculinique, et diffusant à partir des bacilles, ou provenant de la désintégration des bacilles ou des complexes bacillo-cellulaires. Ces fractions sont vraisemblablement *des haptènes.* Les réactions allergiques sont donc

moins strictement spécifiques que les réactions anaphylactiques (Voir notre conception personnelle de l'allergie tuberculeuse, p. 248 et p. 291) ;

6° On observe vraisemblablement dans le cours des tuberculoses des manifestations d'ordre anaphylactique, en même temps que des manifestations d'ordre allergique ;

7° Les réactions allergiques ne dépendent théoriquement dans la tuberculose en aucune façon des réactions et des lésions cellulaires initiales. Il semble cependant exister souvent en fait un parallélisme entre l'intensité des réactions cellulaires et la sensibilisation allergique, le degré de sensibilisation allergique et l'intensité des réactions cellulaires étant tous deux, dans une certaine mesure, fonction de la quantité des bacilles antigènes introduits dans l'organisme.

Les accidents allergiques entraînent d'ailleurs souvent de nouvelles *mobilisations cellulaires ;*

8° La mort du bacille n'est pas nécessaire pour qu'il attire à lui les éléments cellulaires, mais le bacille ne devient surtout toxique *que du fait de sa désintégration* ;

9° Dans la tuberculose, toute mobilisation cellulaire brutale, surtout l'afflux et la phagocytose polynucléaires ont en général un effet néfaste, ainsi que nous l'avons montré par nos recherches personnelles, en collaboration avec R. F. Le Guyon, et ainsi que l'ont aussi mis en évidence les intéressantes expériences de dérivation leucocytaire de Ch. Madelaine, dont nous avons aussi étudié l'effet sur les réactions cellulaires ;

10° Au point de vue sanguin, la polynucléose sanguine semble d'un assez mauvais pronostic au cours des

tuberculoses. Par ailleurs l'élévation du rapport monocyte-lymphocyte dans le sang semble également d'un pronostic défavorable, l'élévation du taux des monocytes dans le sang semblant corrélative à l'étendue des lésions locales ;

11° Certaines fractions isolées du bacille peuvent, lorsqu'elles sont inoculées à l'animal tuberculeux, exercer dans certains cas, une action retardante (antigène méthylique), ou activante (extrait acétonique, phosphatide A_3 de R. J. Anderson ?) ou indifférente (phosphatide A_3) sur l'évolution de la tuberculose. Les extraits tuberculiniques, dont l'activité favorable ou défavorable est indéniable, ne sont à utiliser qu'avec la plus extrême prudence ;

12° Jusqu'à nouvel ordre, la thérapeutique antiphlegmasique par limitation et immobilisation des foyers tuberculeux semble être une des plus logiques et des plus efficaces.

Une chimiothérapie de la tuberculose tendant à modifier les éléments nutritifs et partant, la composition chimique des bacilles infectants sera peut-être intéressante dans l'avenir.

***

Pour conclure, nous dirons qu'en matière de tuberculose, tant au point de vue bactériologique et à celui de l'étude des réactions de l'organisme tuberculeux à l'infection, qu'au point de vue thérapeutique, s'est ouverte pour les chercheurs une ère nouvelle, ère de recherches chimiques et physico-chimiques effectuées

en harmonie avec des recherches biologiques, physiologiques, et physiopathologiques.

L'étude de la composition chimique des bactéries, les fractionnements bactériens, les recherches des diverses propriétés biologiques de ces fractions, telles celles qu'a pratiquées LANDSTEINER, et qui en sont l'exemple le plus éclatant, ont amené des notions nouvelles en bactériologie et en médecine et ces notions sont extrêmement importantes et d'un intérêt à la fois théorique et pratique.

La poursuite de tels travaux, qui constituent les recherches du proche avenir, nécessite des moyens suffisants et une organisation rationnelle.

VU, LE DOYEN,

P. MERKLEN.

VU, LE PRÉSIDENT,

A. BORREL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,

Le Recteur de l'Académie de Strasbourg,

Ch. PFISTER.

INDEX ALPHABÉTIQUE DES AUTEURS (1

A

Achard (Ch.) et Weil (P.), 104.
Albert-Weil (J.), 63.
Albert-Weil (J.) et Le Guyon (R. F.), 88, 89, 108, 114, 137.
Albert-Weil (J.) voir Le Guyon (R. F.) et Albert-Weil (J.), 46, 143.
Alessandrini, voir Sanarelli et Alessandrini, 115.
Anderson (R. J.), 8, 25, 27.
Arloing, Cornevin et Thomas, 109.
Armand-Delille, 9, 117.
Arneth, 97.
Auclair (J.), 15, 167.
Auclair (J.) et Paris, 7, 16, 35, 169, 170.
Avery (Oswald T.) et Gœbel, p. *97*.
Avery (Oswald T.) et Heidelberger (Michael), 73.
Avery (Oswald T.) et Morgan Hugh, 73.

B

Baruk (H.), voir Claude (H.) et Baruk (H.), 171.
Bayle (J. C.), p. *307*.
Bernard et Salomon, 117.
Bezançon (F.) et Délarue (J.), 81 et p. *302* (avec Weil (M. P.) et Oumanski (V.)).
Bezançon (F.), voir Letulle (M.) et Bezançon (F.), 82.

(1) Les chiffres en caractères ordinaires donnent l'indication du numéro de la note contenant la référence concernant l'auteur en question.

Les chiffres *en italique* donnent le Numéro de la page : cas ou la référence concernant l'auteur n'est pas donnée dans une note, mais est incorporée au texte lui-même.

Bing (H.) et Ellerman (V.), 147.
Boquet (A.) et Nègre (L.), 133, 154, 156, 158, 164.
Boquet (A.) et Saenz (A.), 90.
Boquet (A.) et Valtis (J.), 91.
Boquet (A.), voir Nègre (L.) et Boquet (A.), 130.
Bordet (Ch.), voir Massart (J.) et Bordet (Ch.), 106.
Bordet (P.), p. *250*.
Borrel (A.), 10, 83.
Bourdelles (Le) et Sédallian (P.), 63.
Bratianu et Guerriero, 101.
Brokman (H,) et Prokopowicz-Wierzbowska (M.), 153, 163.
Brown (E. B.), voir Johnson (T. B.) et Brown (E. B.), 38.
Bruntz (L.), voir Spillmann (L.) et Bruntz (L.), 100.
Bulloch (W.) et Macleod (J. R.), p. *34*.
Burnet (Et.), 75.

C

Calmette, 8, 130.
Calmette et de Potter, 57.
Carle (J.) et Leuret (F.), 174.
Carrel (A.), 125.
Cattan (R.), voir Fiessinger (N.) et Cattan (R.), 78.
Caussimon (J.), 78.
Cevey, p. *265*.
Chargaff (E.), 27.
Chibnall (A. C.), 40.
Claude (H.), 120.
Claude (H.) et Baruk (H.), 171.
Coghill (R. D.), 41, 42.
Coghill (R. D.), voir Johnson (T. B.) et Coghill (R. D.), 43.
Cornevin, voir Arloing, Cornevin et Thomas, 109.
Courcoux et Ribadeau-Dumas, 117.

D

Darier et Roussy, p. *160*.
Debrez et Govaerts, 77.
Delarue (J.), voir Bezançon (F.) et Delarue (J.), 81 et p. *302* (avec Weil (M. P.) et Oumanski (V.)).
Delore, 105.
Dembinski (M.), 98.
Deycke et Much, p. *265*.
Dienes (L.), 135, 139, 146.
Doan (C. A.) et Sabin (F. R.), 96.
Doan (C. A.), voir Sabin (F.) et Doan (C. A.), 80, 124.
Doan (C. A.), voir Sabin (F. R.), Doan (C. A.) et Forkner (Cl. E.), 122, 142, 144.

Doan (C. A.), voir Sabin (F. R.), Franklin, Miller (L.), Doan (C. A.), Wiseman (Br. K.), 122, 142.
Dominici (H.) et Ostrowski (E.), 118.
Dorset, voir Schweinitz et Dorset, 6.
Doubrow, voir Rist (E.), Doubrow et Froment (R.), 94.
Dreyer (G.) et Wollum (L.), 57, 129.
Dreyfus, voir Lesné et Dreyfus, 152.
Dubreuil, voir Renaut et Dubreuil, 87.
Dudley (H. W.), voir Laidlaw (P.) et Dudley (H. W.), 56.
Duran-Reynals, 168.

E

Ekman (J.), 151.
Ellerman (V.), voir Bing (H.) et Ellerman (V.), 147.

F

Fernbach et Rullier, 53.
Fiessinger (N.), 76.
Fiessinger (N.) et Cattan (R.), 78.
Fitte, voir Huc, Fitte et de Williencourt, 162.
Fitte, voir de Marval et Fitte, 162.
Forkner (Cl. E.), voir Sabin (F. R.), Doan (C. A.) et Forkner (Cl. E.), 122, 142, 144.
Forrsman, 64, 66.
Froment (R.), voir Rist (E.), Doubrow et Froment (R.), 94.
Frouin (A.) et Mlle Guillaumie, 27.

G

Gamaleïa, voir Straus et Gamaleïa, 3.
Gardner (L. U.), 93.
Gerson (N.), 175.
Gideon Wells, 63.
Gœbel, voir Avery (Oswald T.) et Gœbel, p. *97*.
Goris, 8, 18.
Govaerts, voir Debrez et Govaerts, 77.
Grancher et Ledoux-Lebard, 4.
Guerriero, voir Bratianu et Guerriero, 101.
Guillaumie (Mlle), voir Frouin (A.) et Mlle Guillaumie, 27.

H

Hammerschlag, 5.
Hanke (M. T.), voir Seibert (F. B.) et Hanke (M T.), 50, 54.
Heden (Karl), 127.

Heidelberger (M.), voir Avery (Oswald T.), et Heidelberger (M.), 73.
Hermannsdorfer, 175.
Hodenpyl, voir Prudden et Hodenpyl, 2.
Huc (G.), Fitte et de Williencourt, 162.
Hugh (Morgan), voir Avery (Oswald T.) et Morgan Hugh, 73.

J

Johnson (T. B.) et Brown (E. B.), 38.
Johnson (T. B.) et Coghill (R. D.), 43.
Johnson (T. B.) et Renfrew (A. G.), 44.
Jousset (A.), 51, 177.

K

Keller (F.), 160.
Kitajima (T.), 34.
Koch (R.), 1.
Kurt Meyer, 132.

L

Lacapère, 86.
Laidlaw (P.) et Dudley (H. W.), 56.
Lambling, p. *51*.
Landsteiner, 60, 70.
Landsteiner et Sims, 65.
Ledoux-Lebard, voir Grancher et Ledoux-Lebard, 4.
Le Guyon (R. F.), 48.
Le Guyon (R. F.) et Albert-Weil (J.), 46, 143.
Le Guyon (R. F.), voir Albert-Weil (J.) et Le Guyon (R. F.), 88, 89, 108, 114, 137.
Lesné et Dreyfus, 152.
Letulle (M.) et Bezançon (F.), 82.
Leuret (F.), voir Carles (J.) et Leuret (F.), 174.
Levene (P. A.), 33.
Linossier (G), 13.
Lœper, voir Oppenheim et Lœper, 117.
Lœwy (G.), p. *98*.
Long (E.), 36.
Long (E.) et Seibert (F. B.), 26, 49, 54.

M

Macaigne (M.) et Nicaud (P.), 81.
Macleod, voir Bulloch et Macleod, p. *34*.
Madelaine (Ch.), 99.

MARVAL (De), et FITTE, 162.
MASSART (J.) et BORDET (Ch.), 106.
MASSOL (L.), 136.
MATHES, 159.
MAXIMOW (A.), 85, 123.
MAYER et TERROINE, 24, 30.
METALNIKOV (S.) et SECRÉTEVA (V.), 79.
METCHNIKOFF (E.), 74.
MEYER, voir KURT MEYER, 132.
MILLER (Franklin L.), voir SABIN (F. R.), FRANKLIN L. MILLER, DOAN (C. A.), BRUCE (K.), WISEMAN, 122, 142.
MORGAN HUGH, voir AVERY (Oswald T.) et MORGAN HUGH, 73.
MUCH (H.), 62, 67, 131.
MUCH (H.) et DEYCKE, p. *265*.
MUELLER (J. H.), 55, 59, 71.

N

NÈGRE (L.) et BOQUET (A.), 130.
NÈGRE (L.) et VALTIS, 165, et p. *264*.
NÈGRE (L.), voir BOQUET (A.) et NÈGRE (L.), 133, 154, 156, 158 164.
NICAUD (P.), voir MACAIGNE (M.) et NICAUD (P.), 81.
NICOLLE (M.), 149.
NOCARD et ROUX, 110.

O

OBERMEYER et PICK, 68.
ŒLSNITZ (D'), 95.
OPPENHEIM et LŒPER, 117.
OSTROWSKI (E.), 119.
OSTROWSKI (E.), voir DOMINICI (H.) et OSTROWSKI (E.), 118.
OSWALD T. AVERY, et GŒBEL, p. *97*.
OSWALD T. AVERY, et HEIDELBERGER (Michael), 73.
OSWALD T. AVERY, et MORGAN HUGH, 73.
OUMANSKI (V.), p. *302* (avec BEZANÇON (F.), WEIL (M. P.) et DELARUE (J.)).

P

PARIS, voir AUCLAIR et PARIS, 7, 16, 35, 169, 170.
PARKER (Julia T.), voir ZINSSER (H.) et PARKER (Julia T.) 61.
PETROFF (Milieu de), 58.
PETROFF (S. A.), voir ZINSSER (H.) et PETROFF (S. A.), 148.
PICK, 68.
PICK et SCHWARTZ, p. *89*, p. *192*.
PINNER (M.), 134, 138.

Planchon (L.), 176.
Popper (H.) et Warkany (J.), 37.
Potter (de), 152.
Potter (de), voir Calmette et de Potter, 57.
Power, p. *308*.
Prokopowicz-Wierzbowska (M.), voir Brokman (H.) et Prokopowicz-Wierzbowska, 153, 163.
Prudden et Hodenpyl, 2.

R

Radiguet (P.), 121.
Renaut et Dubreuil, 87.
Renfrew (A. G.), voir Johnson (T. B.) et Renfrew (A. G.), 44.
Ribadeau-Dumas, voir Courcoux et Ribadeau-Dumas, 117.
Richard, p. *131*.
Rist (E.), Doubrow et Froment (R.), 94.
Rogers, p. *308*.
Rondoni (P.), 161.
Roussy, voir Darier et Roussy, p. *160*.
Roux, voir Nocard et Roux, 110.
Rullier, voir Fernbach et Rullier, 53.
Ruppel, 31.

S

Sabin (E. R.) et Doan (C. A.), 80, 124.
Sabin (F. R.), Doan (C. A.) et Forkner (Cl. E.), 122, 142, 144.
Sabin (F. R.), Franklin, Miller (L.), Doan (C. A.), Wiseman (Br. K.), 122, 142.
Sabin (F. R.), voir Doan (C. A.) et Sabin (F. R.), 96.
Saenz (A.) et Van Demse (F.), 45.
Saenz (A.), voir Boquet (A.) et Saenz (A.), 90.
Sakae Tamura, 17, 32.
Salomon et Valtis, p. *244*.
Salomon, voir Bernard et Salomon, 117.
Sanarelli et Alessandrini, 115.
de Sanctis Monaldi, 96.
Sauerbruch, 175.
Schwarz, voir Pick et Schwarz, p. *89*, p. *192*.
Schweinitz et Dorset, 6.
Schobl, p. *309*.
Secreteva, voir Métalnikov (S.) et Secreteva (V.), 79.
Sedallian (P.), voir Le Bourdelles et Sedallian (P.), 63.
Seibert (F. B.), 54.
Seibert (F. B.) et Hanke (M. T.), 50, 54.
Seibert (F. B.), voir Long (E.) et Seibert (F. B.), 26, 49, 54.
Sherwood (Marion B.), 92.

Sims, voir Landsteiner et Sims, 65.
Spillmann (L.) et Bruntz (L.), 100.
Straus et Gamaleia, 3.
Sweeney, voir Walker et Sweeney, p. *309*.

T

Terroine, voir Mayer et Terroine, 24, 30.
Thomas, voir Arloing, Cornevin et Thomas, 109.
Thudicum, 14.

U

Urbain, 136.

V

Vaillard (L.) et Vincent (H.), 107.
Valtis (J.), voir Boquet (A.) et Valtis (J.), 91.
Valtis (J.), voir Nègre (L.) et Valtis (J.), 165, et p. *264*.
Valtis (J.), voir Salomon et Valtis, p. *244*.
Van Demse (F.), voir Saenz (A.) et Van Demse (F.), 45.
Verge (J.), 155.
Vincent (H.), voir Vaillard (L.) et Vincent (H.), 107.

W

Walker et Sweeney, p. *309*.
Warkany (J.), voir Popper et Warkany, 37.
Wasserman, 128.
Weil (J. A.), voir Albert-Weil (J.).
Weil (M P.), p. *302* (avec Bezançon (F), Delarue et Oumanski (V))
Weil (P.), voir Achard (Ch.) et Weil (P.), 104
Wells (Gideon), 63.
Werigo, 103.
Weyl (Th.), 116.
White (W. C.), 145.
de Williencourt, voir Huc, Fitte et de Williencourt, 162.
Wiseman (Bruce K.), voir Sabin (F. R.), Miller (Fr. L.), Doan (C. A.), Wiseman (Br. K.), 122, 142.
Wolff-Eisner, 150.
Wollum (L.), voir Dreyer (G.) et Wollum (L.), 57, 129.

Z

Zinsser (H.), 61, 72, 157.
Zinsser (H.) et Julia T. Parker, 61.
Zinsser (H.) et Petroff (S. A.), 148.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

PRÉFACE XI

INTRODUCTION 1

PREMIÈRE PARTIE

Composition chimique du bacille de Koch. Les substances extraites du bacille de Koch et leur technique d'extraction. 5

CHAPITRE PREMIER. — *Généralités. Poisons endo et exomicrobiens. Historique. Rappel de quelques notions chimiques. Les techniques d'extraction d'*AUCLAIR et PARIS *et de* SAKAE TAMURA 5

Poisons tuberculeux endo et exomicrobiens 7

Définition des lipoïdes 12

Les techniques d'AUCLAIR et PARIS 15

Technique de SAKAE TAMURA 19

CHAPITRE II. — *Les lipoïdes du bacille de Koch : Technique d'extraction de* GORIS *et résultats obtenus* 22

Analyse des diverses substances obtenues 24

CHAPITRE III. — *Les lipoïdes du bacille de Koch. La technique de* R. J. ANDERSON *et ses résultats* 36

Analyse des diverses substances obtenues 38

CHAPITRE IV. — *Les constituants protéiques du bacille de Koch* 50

Technique d'extraction de T. B. JOHNSON et E. B. BROWN 55

Recherches de R. D. COGHILL 58

CHAPITRE V. — *La question de la Tuberculine* 64

Ultra-filtration de la Tuberculine. *Expériences personnelles* (R. F. LE GUYON et J. ALBERT-WEIL). 66

Pages

Les principes actifs de la Tuberculine de Koch et des tuberculines obtenues à partir de milieux synthétiques 72
Travaux de H. Mueller 75

DEUXIÈME PARTIE

Les Conceptions modernes des substances antigènes et les réactions cellulaires dans la Tuberculose 85

Chapitre premier. — *Les conceptions modernes des substances antigènes et les Théories de* Landsteiner 85
La question des antigènes lipoïdes 87
Les fonctions antigéniques 89
Les travaux de Landsteiner 93
Recherches de Zinsser et de Avery et Heidelberger 96

Chapitre II. — *Les réactions cellulaires dans la Tuberculose. Les facteurs cellulaires de dispersion et de localisation de l'infection tuberculeuse. Le problème de la bactériopexie* 102
Bactériopexie circulante et bactériopexie fixée 104
Réactions histopathologiques bacillaires spécifiques et non spécifiques 106
Tuberculose folliculaire et Tuberculose non folliculaire 108
Les réactions cellulaires dans les tuberculoses expérimentales. Les recherches initiales de A. Borrel 112
Les réactions cellulaires chez les animaux allergiques. Réactions cellulaires et bactériopexie du bacille de Koch dans les primo-infections et les réinfections tuberculeuses expérimentales du cobaye (*Expériences personnelles*, avec R. F. Le Guyon) 118
Réactions exsudatives et allergie 124
La formule sanguine au cours des Tuberculoses 126
Le rapport Monocyte-lymphocyte 129
La « dérivation des polynucléaires » Expériences de Ch. Madelaine 132
Influence de la dérivation leucocytaire sur les stades initiaux de la bactériopexie du B. K. chez le lapin (*Expériences personnelles* avec R. F. Le Guyon). 138
Tentatives de modification des stades initiaux de la bactériopexie des bacilles de Koch par des

Pages

méthodes autres que la méthode de dérivation (*Expériences personnelles* avec R. F. Le Guyon). 142
Influence de l'acide lactique et de l'opium sur la bactériopexie du B. K. (*Expériences personnelles* avec R. F. Le Guyon)..... 145

TROISIÈME PARTIE

Action biologique des fractions extraites du bacille de Koch.. 155
Avant-propos..... 155

Chapitre premier. — *Action histopathologique des fractions lipoïdiques du bacille de Koch*..... 158
Action histopathologique des lipoïdes du B. K. d'après Auclair et Paris..... 158
Action histopathologique des lipoïdes du B. K. d'après les travaux des auteurs américains.... 166
Définition du *Clasmatocyte*..... 169
Réactions cellulaires aux fractions lipoïdes du B.K. isolées par R. J. Anderson..... 174
1°) Processus réactionnel irritatif aigu *non spécifique*..... 175
2°) Réactions cellulaires spécifiques..... 178
3°) Réactions conjonctives non spécifiques..... 181
Réactions de sensibilisation et lipoïdes du B. K... 186
Conclusion..... 187

Chapitre II. — *La question du pouvoir antigène des lipoïdes du bacille tuberculeux*..... 192
Rappel de notions élémentaires concernant les réactions antigènes-anticorps *in vitro* et les réactions *in vivo*..... 195
Recherches de Boquet et Nègre..... 200
Réactions cellulaires après injection d'antigène méthylique (*Recherches personnelles*) avec R. F. Le Guyon)..... 207
Action antigène de la phosphatide A_3 de R. J. Anderson..... 208
Recherches de L. Dienes, ses essais de différenciation sérologique des antigènes tuberculeux..... 209
Conclusion..... 216

Chapitre III. — *Actions histopathologique et physio-*

Pages

pathologique des fractions protéïques du bacille de Koch et des fractions polysaccharïques 221
Réactions cellulaires du cobaye après injection intrapéritonéale de tuberculine brute (*Expériences personnelles* (R. F. Le Guyon et J. Albert-Weil)). 227
Actions histopathologique et physiopathologique des fractions polysaccharïques isolées du B. K... 229
Réactions cellulaires et état allergique..... 231

Chapitre IV. — *Le rôle antigène des fractions protéïques et polysaccharïques du bacille de Koch*..... 234

Chapitre V. — *Les réactions tuberculiniques dans leurs rapports avec l'allergie tuberculeuse. Définition de l'Allergie. Relations existant entre l'activité tuberculinique et les propriétés antigènes*..... 239
Définition de l'Allergie (*Conception personnelle*).. 248
Allergie et anaphylaxie dans la tuberculose 251
Conclusions 260

Chapitre VI. — *Influence de l'inoculation de diverses fractions extraites du bacille de Koch sur l'évolution des tuberculoses*..... 262
A) Fractions lipoïdiques..... 262
B) Fractions protéïques..... 264

QUATRIÈME PARTIE

Sommaire récapitulatif. — Conception générale des processus pathogéniques de la tuberculose et déductions thérapeutiques. — Conclusions..... 271

Chapitre premier. — *Sommaire récapitulatif*..... 271
Composition chimique du B. K..... 272
Les conceptions modernes des substances antigènes..... 275
Les réactions cellulaires dans la tuberculose..... 277
Action histopathologique et physiopathologique des lipoïdes du B. K..... 282
Action histopathologique et physiopathologique de protéïnes du B. K..... 286
Action histopathologique et physiopathologique des polysaccharides du B. K..... 288

Pages

Antigénie tuberculeuse et pouvoir antigénique des fractions isolées à partir du B. K. 288
L'Allergie tuberculeuse 291
Influence des injections de fractions bacillaires sur l'évolution des tuberculoses 295

CHAPITRE II. — *Conception générale des processus pathogéniques de la tuberculose et déductions thérapeutiques* .. 296
Déductions thérapeutiques 304

CHAPITRE III. — *Conclusions* 310

INDEX ALPHABÉTIQUE DES AUTEURS 315

Les Presses Universitaires de France. — Paris-Saint-Amand. — 18-6-1931